

University of Groningen

## Vitamine B12- en foliumzuurdeficientie

Nieweg, Hendrik Omgo

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1953

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Nieweg, H. O. (1953). Vitamine B12- en foliumzuurdeficientie. [Groningen]: Rijksuniversiteit Groningen.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# VITAMINE B12- EN FOLIUMZUURDEFICIENTIE

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN  
DE RIJSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN,  
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS  
Mr J. H. BEEKHUIS, HOOGLERAAR IN DE  
FACULTEIT DER RECHTSGELEERDHEID, TE-  
GEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACUL-  
TEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN

OP WOENSDAG 10 JUNI 1953,  
DES NAMIDDAGS TE 3 UUR PRECIES

DOOR

HENDRIK OMGO NIEWEG

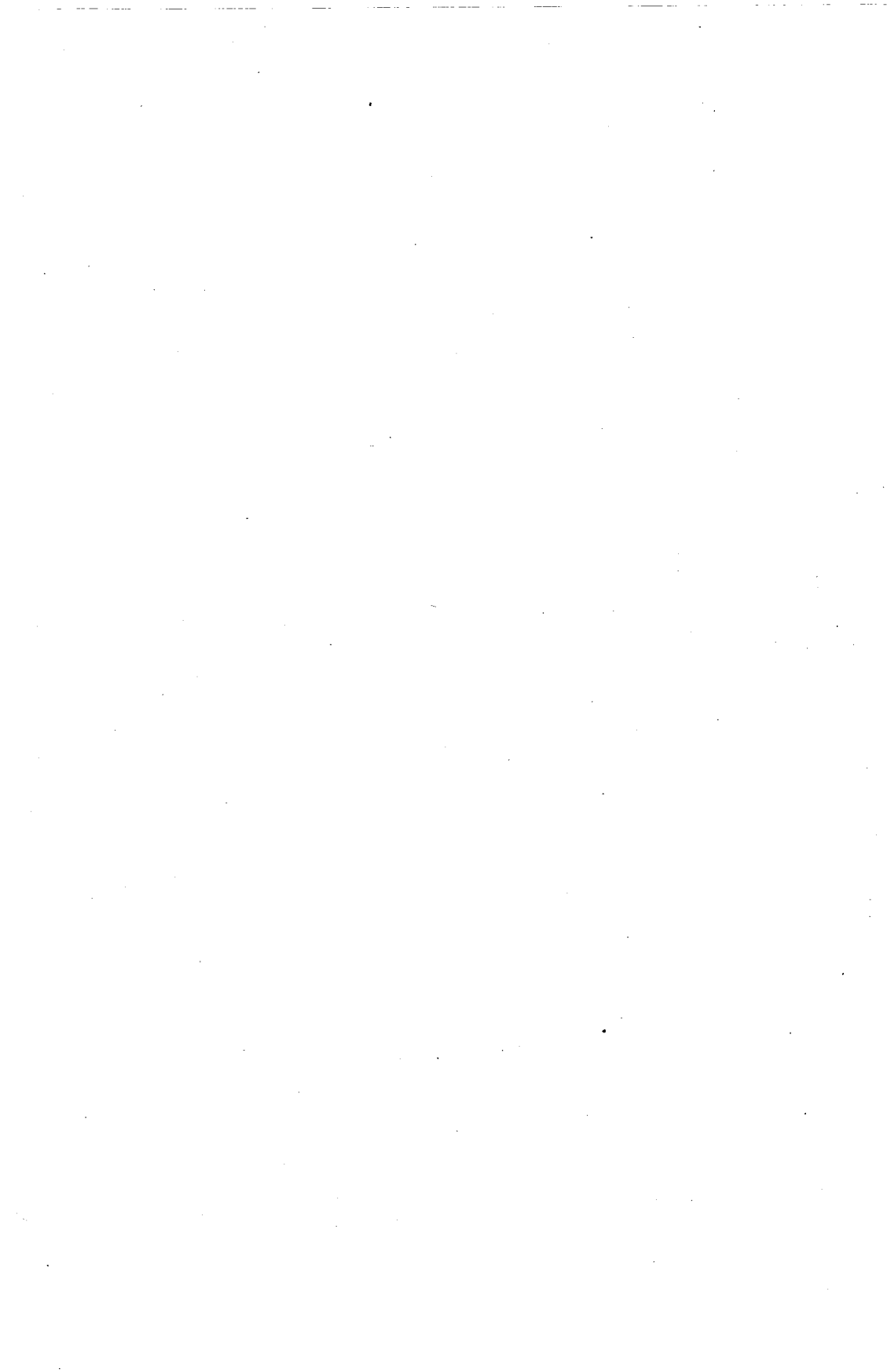
GEBOREN TE BIERUM



PROMOTOR: PROF. DR F.S.P.VAN BUCHEM

*Aan mijn Ouders*

*Aan mijn Vrouw*



Bij het verschijnen van dit proefschrift moet ik uiting geven aan mijn gevoelens van dankbaarheid jegens mijn Ouders voor de wijze, waarop zij mij leiding gaven en mijn studie mogelijk maakten.

U, Hoogleraren en Oud-Hoogleraren in de Faculteit van de Geneeskunde te Groningen, betuig ik dank voor het genoten onderwijs.

Het was een voorrecht, dat voor mij de mogelijkheid werd geopend te studeren aan de Universiteit van Edinburgh. In het bijzonder wil ik SIR JAMES LEARMONTH dank zeggen.

Hooggeleerde VAN BUCHEM, Hooggeachte Promotor, mijn verblijf als student in Uw kliniek te Tilburg heeft mij beïnvloed bij de keuze van mijn specialisme. Later hebt gij mij in de gelegenheid gesteld mij als assistent onder Uw leiding in dit onderdeel der Geneeskunde te bekwamen. Ook hebt gij mij aangezet tot het verrichten van het onderzoek, neergelegd in dit proefschrift. Terwijl gij aan de ene kant voortdurend critische leiding geeft, krijgen Uw assistenten aan de andere kant de vrijheid zelfstandig spoorwerk te verrichten. Hierdoor hebt gij een stimulerende sfeer geschapen, die het werken in Uw kliniek tot een voorrecht maakt.

U, Zeergeleerde ARENDS en Geleerde STENFERT KROESE, ben ik dankbaar voor de wijze, waarop U mij in de Haematologie hebt ingeleid.

Zeergeleerde KEUNING, Uw steun was onmisbaar. Zowel van Uw uitgebreide theoretische kennis als van Uw grote praktische vaardigheid heb ik geprofiteerd.

Zeergeleerde FABER en Ervaren DE VRIES, ik ben zeer erkentelijk voor de door U verleende hulp. Gij hebt de vitamine B12- en foliumzuurbepalingen op U willen nemen. Aan de Directie van de N.V. PHILIPS-ROXANE, die hiervoor het Microbiologisch Laboratorium te Weesp beschikbaar stelde, ben ik dank verschuldigd.

U, Zeergeleerde VEGTER, ben ik veel verschuldigd. U bent altijd bereid de leden van de klinische staf met raad en daad terzijde te staan.

Zeergeleerde HADDERS en Geleerde EIBERGEN, bij het pathologisch-anatomische deel van dit proefschrift was Uw hulp van groot belang.

Voor de technische steun van Mejuffrouw KIKSTRA en Mejuffrouw SCHAPINK en de Heer KONING van het Pathologisch Laboratorium en de Heer DIJK van het Histologisch Laboratorium ben ik dankbaar.

Met dank vermeld ik, dat verschillende praeparaten aan mij ter beschikking werden gesteld door de N.V. ORGANON te Oss en door de LEDERLE LABORATORIES te New York door bemiddeling van de N.V. MEINDERSMA te 's-Gravenhage.



# INHOUD

	blz.
INLEIDING	9
HOOFDSTUK I	
Waarnemingen bij met vitamine B12 en foliumzuur behandelde patiënten	12
HOOFDSTUK II	
Megaloblastaire anaemie als manifestatie van twee deficienties	39
HOOFDSTUK III	
Opmerkingen over het verband tussen factoren van de foliumzuurgroep en vitamine B12	47
HOOFDSTUK IV	
De pathogenese van ziekten ontstaan door vitamine B12- en foliumzuur-gebrek	53
HOOFDSTUK V	
Erythroblastische anaemie, een manifestatie van foliumzuur-gebrek	65
HOOFDSTUK VI	
Enige opmerkingen over de betekenis van gebrek aan foliumzuur en vitamine B12 bij spruw	72
HOOFDSTUK VII	
De theorie van Castle.	
De betekenis van de intrinsic factor	83
SAMENVATTING	88
SUMMARY	96





## INLEIDING

Pas in deze eeuw is men algemeen vertrouwd geraakt met het begrip deficiëntieziekte, vooral ook door het werk van EYKMAN en GRIJNS. Toch waren onze voorouders in de Gouden Eeuw reeds op de hoogte van de genezende werking van sinaas-appels bij scorbuut en in 1747 deed JAMES LIND proeven, die vermoedelijk de oudste zijn over de samenhang tussen de voeding en bepaalde ziektebeelden. "He took twelve men in the scurvy on board the Salisbury at sea". Het vitamine C is echter nog maar kort bekend (1932).

Hetzelfde geldt voor de pellagra, die in 1735 door GASPAR CASAL is beschreven. Hij gaf reeds aan, dat goede voeding het beste middel is om deze ziekte te genezen. Het is echter nog maar 30 jaar geleden, dat GOLDBERGER aantoonde, dat een inadequaat dieet de oorzaak was, terwijl nicotinezuur, de essentiële factor bij pellagra, reeds in 1867 was gesynthetiseerd.

Door de snelle ontwikkeling van de voedingsleer in onze eeuw zijn nu ook verschillende vitaminen bekend, zoals vitamine E en vitamine B<sub>6</sub>, waarvan klinische manifestaties van een deficiëntie niet met enige zekerheid bekend zijn.

Wat betreft de vitaminen, die het onderwerp van dit proefschrift zijn: de klinische beelden, die een gevolg zijn van gebrek aan deze factoren, kende men reeds lang.

In 1669 beschreef VINCENT KETELAERS de spruw in zijn "De Aphthis nostratibus". Door het werk van de tropenartsen VAN DER BURG en MANSON werd dit ziektebeeld beter bekend.

Aan de anaemia pernicioosa is verbonden de naam van ADDISON, die in 1855 een voortreffelijke beschrijving van deze ziekte gaf. De term anaemia pernicioosa danken wij echter aan BIERMER uit Zürich (1872). Men neemt aan, dat in 1822 reeds JAMES S. COMBE uit Edinburgh een geval van deze ziekte waarnam.

Aan het eind van de 19de eeuw zag EHRLICH, dat cellen, morphologisch identiek met embryonale rode bloedcellen, voorkomen in het bloed van volwassenen met perniciose anaemie. Deze cellen, door hem megaloblasten genoemd, kunnen gemakkelijker aangetoond worden, nu de klinicus de beschikking heeft gekregen over de sternumpunctie (1929).

Deze diagnostische methode was vooral belangrijk, omdat men intussen de beschikking kreeg over een doeltreffende therapie. Dat het epitheton "pernicioosa" verouderd is, danken wij aan MINOT en MURPHY (1926), die een voorloper hadden in onze landgenoot ELDERS.

CASTLE heeft in klassiek geworden klinische onderzoekingen zowel de pathogenese van de perniciose anaemie als die

van de spruw bestudeerd. Door hem werd de grondslag gelegd voor het begrip voorwaardelijke deficiëntie.

Na deze periode van snelle vorderingen op dit gebied van de geneeskunde, trad aanvankelijk een zekere stabiliteit in. In de laatste phase kwam het zwaartepunt van het speurwerk te liggen bij de biochemicus. Vooral in de laboratoria van de pharmaceutische industrie is veel werk verricht. Daardoor kent men nu een aantal factoren in zuivere vorm, die de megaloblastaire haematopoiese beïnvloeden.

Dit "chemische tijdperk" begon in 1945, toen SPIES en zijn medewerkers de gunstige werking van foliumzuur bij megaloblastaire anaemieën beschreven. Daarop volgde in 1946 een mededeling van dezelfde auteurs over het haematopoietisch effect van thymine.

De Amerikaanse onderzoekster MARY SHORB gaf in 1947 een bacteriologische ijkingstechniek aan voor anti-anaemische leverextracten. Met behulp van deze methode slaagden RICKES c.s. erin het vitamine B12 te isoleren. Vlak daarna verscheen de publicatie van LESTER SMITH, die met de hulp van de klinicus UNGLEY deze factor verkreeg (1948).

Vitamine B12 wordt wel als identiek beschouwd met de "Animal Protein Factor". Hoewel dit bestreden is, staat vast, dat het er in ieder geval een zeer belangrijk bestanddeel van vormt. Het is gebleken, dat voor kuikens plantaardige rantsoenen niet optimaal zijn (1944, 1946). Verbetering is te verkrijgen door toevoeging van vismeel, lever etc.: producten dus van dierlijke oorsprong. Voor de hiermee toegevoerde substantie(s) werd de term "Animal Protein Factor" ingevoerd. Een "Animal Protein Factor"-praeparaat is actief bij lijders aan perniciëuse anaemie, terwijl vitamine B12 de "Animal Protein Factor" kan vervangen bij kuikens. Het bleek bij latere onderzoekingen dan ook, dat onder de voedingsmiddelen vlees, vis, lever, nier, melk en kaas verreweg de belangrijkste bronnen van vitamine B12 zijn.

Deze gegevens zijn in overeenstemming met de stelling van GERRIT JAN MULDER, één der grondleggers van de moderne voedingsleer, die reeds een eeuw geleden de mening uitsprak, dat dierlijke eiwitten voor de voeding superieur zijn aan plantaardige, hoewel ze dezelfde proteïnekern bevatten.

In 1948 beschreven SAUBERLICH en BAUMANN een groeifactor voor het micro-organisme *Leuconostoc citrovorum*, die voorkomt in sommige leverextracten. SPIES paste deze citrovorum factor, die verwant is aan foliumzuur, in de kliniek toe in 1950.

VILTER en zijn medewerkers namen een haematopoietisch effect waar van uracil (1950).

In 1951 zag HAUSMANN een gunstige werking van thymidine bij twee gevallen van perniciëuse anaemie.

Het ligt in de bedoeling in dit proefschrift een overzicht te geven van de indicaties en de resultaten van de toepassing van vitamine B12 en foliumzuur in de kliniek. Aan de hand van deze gegevens zullen enkele nieuwere inzichten

in de pathogenese worden besproken en zal worden nagegaan, welke gevolgen voor de praktijk voortgekomen zijn uit de arbeid, die door de biochemicus op dit gebied van de voedingsleer is verricht.

#### LITERATUUR

1. Mary S. Shorb: J. Biol. Chem. 169-455-1947.
2. Mary S. Shorb: Science 107-397-1948.
3. E.L. Rickes, N.G. Brink, F.R. Koniuszy, T.R. Wood en K. Folkers: Science. 107-396-1948.
4. E.L. Smith en L.J.F. Parker: Biochem. J. 43-VII-1948.
5. J.C. Hammond en H.W. Titus: Poultry Sci. 23-471-1944.
6. H.R. Bird: J. Biol. Chem. 163-387-1946.
7. C.A. Cary, A.M. Hartman, L.P. Dryden en G.D. Likely: Fed. Proc. 5-128-1946.
8. E.L.R. Stokstad, A. Page, J. Pierce, A.L. Franklin, T.H. Jukes, R.W. Heinle, M. Epstein en A.D. Walsh; J. Lab. Clin. Med. 33-860-1948.
9. W.H. Ott, E.L. Rickes en T.R. Wood: J. Biol. Chem. 174-1047-1948.
10. U.J. Lewis, U.D. Register, H.T. Thompson en C.A. Elvehjem: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72-479-1949.
11. H.T. Thompson, L.S. Dietrich en C.A. Elvehjem: J. Biol. Chem. 184-175-1950
12. K. Hausmann: Lancet 1-329-1951.
13. T.D. Spies, G.G. Lopez, F. Milanese, R.L. Toca, A. Reboredo en R.E. Stone: South. Med. J. 43-1076-1950.
14. T.D. Spies, C.F. Vilter, M.B. Koch en M.H. Caldwell: South. Med. J. 38-707-1945.
15. T.D. Spies, C.F. Vilter, J.K. Cline en W.B. Frommeyer: South. Med. J. 39-269-1946.
16. T.D. Spies, W.B. Frommeyer, C.F. Vilter en A. English: Blood, J. Hematol. 1-185-1946.
17. H.E. Sauberlich en C.A. Baumann: J. Biol. Chem. 176-165-1948.

## HOOFDSTUK I

### Waarnemingen bij met vitamine B12 en foliumzuur behandelde patienten

#### Genuiene perniciëuse anaemie (ADDISON-BIERMER)

Deze ziekte is algemeen bekend, zodat hier volstaan kan worden met een zeer korte beschrijving van het klinische beeld. CASTLE 1) heeft ons duidelijk gemaakt, dat voor het ontstaan van de deficiëntie bij lijders aan anaemia perniciosa een tekort aan "intrinsic factor" in het maagsap een essentiële voorwaarde is.

De door gebrek aan intrinsic factor ontstane deficiëntie manifesteert zich klinisch voornamelijk in drie systemen:

1. de bloedvormende weefsels. Het beenmerg produceert een te gering aantal cellen, die ook morphologisch afwijkend zijn. Bovendien bleken de rode cellen een abnormaal korte levensduur te hebben 2). Dit kan aanleiding geven tot een verhoogde bilirubinespiegel in het bloed.

2. het zenuwstelsel. Bij vele patiënten vindt men verschijnselen van de kant van het perifere zenuwstelsel. Soms is ook het centrale zenuwstelsel aangetast: dan bestaat er een gecombineerde strengaandoening.

3. het maagdarmkanaal. Bekend is de glossitis, waaraan de naam van HUNTER is verbonden. Anorexie, misselijkheid en braken doen de klinicus vaak denken aan maagcarcinoom. Hardnekkige diarrhoe vonden we bij onze patiënten slechts zelden, maar dit verschijnsel werd door vele onderzoekers beschreven.

Voor een meer uitgebreide beschrijving van het klinische beeld zij verwezen naar de bekende standaardwerken als dat van WINTROBE 3) en van DE VRIES 4). Bijzonder fraai is ook de studie van de hand van HIJMAN VAN DEN BERGH en VERLOOP 5).

De diagnose perniciëuse anaemie werd gesteld op grond van de volgende diagnostische criteria: macrocytaire anaemie, granulocytopenie, thrombocytopenie, megaloblastaire veranderingen in de rode reeks en reuzenstaven in de witte reeks in het beenmerg, urobilinurie en histamine-refractaire achylie naast sommige van de reeds genoemde verschijnselen.

Wel moet er in deze korte beschouwing over de kenmerken van de anaemia perniciosa op gewezen worden, dat tegenwoordig de geel-bleke kleur, die altijd weer genoemd wordt in beschrijvingen van het klinische beeld, niet zelden ontbreekt.

Onze ervaringen met vitamine B12 in de behandeling van de anaemia perniciosa zijn ongetwijfeld gunstig te noemen. Deze therapie is, voorzover wij kunnen beoordelen aan de hand van de klinische toestand, van het aantal erythrocyten, van het

Hb, van de reticulocytencrisis en de neurologische status, zeker even goed als de leverbehandeling. Vele schrijvers (6-21) hebben hun gunstige resultaten met vitamine B12 meegedeeld, sinds de eerste publicatie over de toepassing van dit medicament van de hand van WEST 22) verschenen is. De werking van vitamine B12 op de neurologische afwijkingen is vooral naar voren gebracht door BERK e.a. 23), UNGLEY 24) en vele anderen 25, 26). Ook vitamine B12b, vitamine B12c en vitamine B12d, waarin de cyaangroep van vitamine B12, het cyano-cobalamine, door andere groepen vervangen is, bleken actief te zijn 27, 28, 29, 30).

Hoewel de klinische resultaten van de vitamine B12-therapie niet onderdoen voor die van de behandeling met leverextracten, wordt toch door OWREN aangegeven, dat leverextract behalve vitamine B12 een substantie bevat, die door hem P.S.-factor werd genoemd. Hij vond met de door hem ontwikkelde methode een hypoprothrombinaemie bij lijders aan perniciëuse anaemie. Vitamine B12, foliumzuur en vitamine K beïnvloedden deze afwijking volgens OWREN 31, 32) niet. Slechts door toediening van ruw leverextract werd het prothrombinegehalte normaal. Deze mededeling van OWREN is tegengesproken door UNGLEY 33) en CONLEY c.s. 34). Toch moet het niet als onmogelijk worden beschouwd, ook op grond van onze later te bespreken weefselkweekexperimenten, dat leverextract naast vitamine B12 en foliumzuurachtige stoffen nog een factor bevat, die bij de perniciëuse anaemie van belang is. De mogelijkheid van het bestaan van accessoire factoren werd het eerst naar voren gebracht door JACOBSON en BISHOP 35).

Bij onze serie patiënten werden geen onaangename reacties op vitamine B12 gezien. NOREN 36) bestudeerde negen patiënten, die allergisch reageerden op leverpraeparaten. Zijn bevindingen wezen erop, dat deze allergische reacties meestal niet berusten op het in leverextracten aanwezige vitamine B12. DE BOER 37) behandelde echter een patiënt met perniciëuse anaemie, die erythemateus eczeem kreeg na injecties met verschillende leverpraeparaten en ook na behandeling met vitamine B12. Een intracutane test met een oplossing van kristallijn vitamine B12 gaf roodheid over een huidgebied met een diameter van 4-5 cm. Bij tien contrôle-personen waren intracutane tests negatief. Ook YOUNG 38) nam allergie tegen vitamine B12 waar. Men kan wel zeggen, dat dit slechts zelden voorkomt. Bij patiënten, die overgevoelig zijn voor leverextract, is het dus zeker gewenst vitamine B12 te proberen.

In tabel 1-3 wordt een overzicht gegeven van de resultaten van de behandeling van lijders aan perniciëuse anaemie.

Enkele van onze patienten zullen uitvoeriger besproken worden.

A.O., een meisje van 14 jaar, werd opgenomen met klachten over moeheid, dyspnoe d'effort en diarrhoe sinds een half jaar. Bij onderzoek vonden wij bij dit bleek-gele meisje een gladde tong, een systolische soufflé aan het cor en een palpabele milt.

Het beenmerg was duidelijk megaloblastair. Wij stonden voor de vraag, wat hiervan de oorzaak was. Dit patiëntje had geen vrij zoutzuur in het maagsap. Er werd dus in de eerste plaats gedacht aan anaemia perniciosa. Als bezwaar tegen deze diagnose gold de leeftijd, omdat perniciëuse anaemie een ziekte is van de tweede levenshelft.

Achylia gastrica vindt men ook bij vele patiënten met spruw. Deze ziekte komt vooral bij jongere mensen voor en is in Nederland meestal de oorzaak van megaloblastaire anaemie op deze leeftijd. De klachten over diarrhoe wezen in dezelfde richting. De vitamine A-curve was vlak: 2 I.E.-64 I.E.-47 I.E.-13 I.E. Glucosebelastingscurve: nuchter 104 mg%, na 30 min. 112 mg%, na 60 min. 118 mg%, na 90 min. 114 mg%, na 120 min. 100 mg%, na 150 min. 96 mg%. De diagnose spruw hebben wij toch laten varen nadat de uitkomsten van de vetbepalingen in de faeces bekend werden: totaal vet 23% van de droogrest na SCHMIDT's dieet. Ook met de techniek van VAN DE KAMER werden normale vetresorptie-coëfficiënten gevonden: gedurende een proefperiode van 2 weken varieerde de coëfficiënt van 89-100%, gemiddeld 96%.

De voedingsanamnese leverde aanknopingspunten op voor de diagnose megaloblastaire voedingsanaemie, daar patiënte practisch geen vlees, vis, melk of eieren gebruikte. Met deze mogelijkheid moest dus ook rekening gehouden worden.

Een oplossing van de diagnostische moeilijkheid was van essentieel belang. Voor lijders aan perniciëuse anaemie is immers ook na het bereiken van een remissie behandeling nodig. Daarom is nagegaan, of er in het maagsap van dit meisje intrinsic factor aanwezig was.

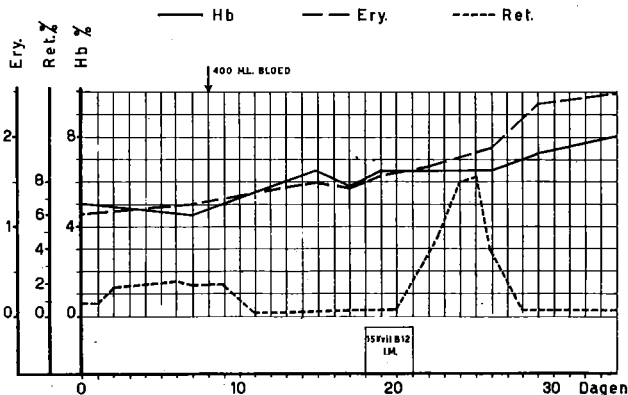
Bij een onbehandelde patiënte met anaemia perniciosa werd orale behandeling gedurende 14 dagen met 15  $\gamma$  vitamine B12 per dag toegepast. Het Hb was voor de proef 8 g%, het aantal erythrocyten 2.000.000 en het aantal reticulocyten varieerde van 1-2%. Hierin trad geen verandering op, ook niet nadat gedurende een 2de periode van 15 dagen 7 x 40-50 ml. maagsap van ons patiëntje erbij gegeven was. Intramusculaire toediening van vitamine B12 was wel effectief.

Op grond van deze waarneming bij de tweede patiënte werd een afwezigheid van intrinsic factor aangenomen. Bij dit meisje van 14 jaar luidde de diagnose: juveniele perniciëuse anaemie.

Een tweelingzusje, dat niet op patiënte geleek, werd ook onderzocht: Hb 12 g%, erythrocyten 3.600.000. Bij haar werd wel vrij zoutzuur in het maagsap gevonden.

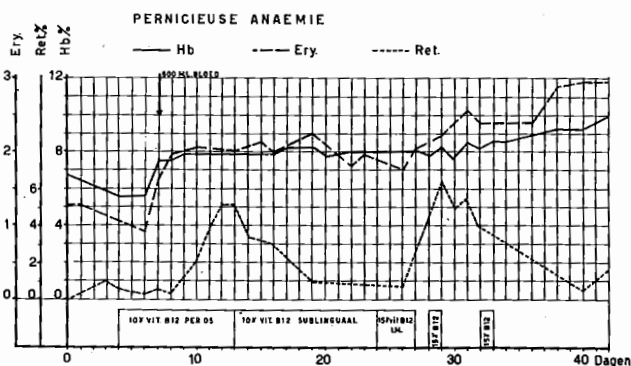
Beloop: patiënte kreeg eerst een transfusie van 400 ml. bloed, waardoor het Hb steeg van 5,1 g% tot 6,4 g% en het aantal erythrocyten van 1.200.000 tot 1.500.000 (zie fig. 1). De verdere behandeling bestond uit 3 x 15  $\gamma$  vitamine B12 i.m. Na 14 dagen was het Hb 8 g%, erythrocyten 2.400.000. De reticulocyten stegen van 0,5% tot 8,6% op de 8ste dag. Na twee maanden (2 x per week 15  $\gamma$  vitamine B12) was het Hb 12,6 g% en het aantal erythrocyten 3.800.000. De algemene toestand was zeer sterk verbeterd.

#### JUVENIELE PERNICIEUZE ANAEMIE



Figuur 1.

S.G., een man van 66 jaar, werd reeds 2 jaar lang behandeld wegens bloedarmoede. Hij kreeg 10 mg. foliumzuur per dag per os. Hij had de tabletten elke dag tot de dag van opname getrouw gebruikt. Hij voelde zich moe. Het lopen ging moeilijk. Verder klaagde hij over tongpijn. Bij onderzoek werd een geel-bleke kleur en atrophie van de tong gevonden. Aanvankelijk werd hij behandeld met een vitamine B12-paraat per os en sublinguaal zonder veel succes. Intramusculaire toediening van vitamine B12 bracht een remissie teweeg. De haematologische veranderingen zijn weergegeven in fig. 2.



Figuur 2.

Zijn Hb is nu, 30 maanden later, 14 g%, het aantal erythrocyt. 4.700.000. De gecombineerde strengaandoening is aanvankelijk veel verbeterd, maar de toestand is nu stationnair en objectief zijn er nog altijd duidelijke afwijkingen.

Bij deze lijder aan perniciose anaemie faalde foliumzuurtherapie geheel en al. Bij binnenkomst had hij megaloblastaire anaemie, glossitis en funiculair myelose. Vitamine B12 daarentegen beïnvloedde zowel de anaemie en de glossitis als de gecombineerde strengaandoening in gunstige zin.

De gunstige resultaten, zowel van leverextract als van vitamine B12 bij de behandeling van de anaemia perniciosa, steken wel gunstig af tegen de algemeen waargenomen moeilijkheden met de foliumzuurtherapie (39-46). ROSS c.s. (47) zagen in zo korte tijd ernstige neurologische afwijkingen ontstaan, dat zij aan een toxische werking van foliumzuur op het zenuwstelsel dachten. Ook werd in vele gevallen het bloedbeeld, dat aanvankelijk bijna of geheel normaal werd, weer duidelijk pathologisch, zoals ook bij onze patiënt S.G. SCHIEVE en RUNDLES (48) wezen erop, dat de glossitis, die erg hinderlijk kan zijn, soms wel en soms niet verbeterd na foliumzuurtherapie. Vitamine B12 heeft daarentegen volgens deze auteurs en ook naar onze ervaring altijd een genezende werking op de mucosa van de tong bij anaemia perniciosa.

Bij de behandeling van de perniciose anaemie is dus vitamine B12 of leverextract geïndiceerd. Aan het te gebruiken leverextract moet de eis gesteld worden, dat de vitamine B12-concentratie is aangegeven en dat deze niet lager mag zijn dan 5  $\gamma$  per ml. Praeparaten, die niet hieraan voldoen, zijn te onzeker in hun werking.

Bij de te voren niet behandelde lijder aan perniciose anaemie is in het algemeen een doseringsschema toegepast, waardoor een toevoer van gemiddeld 3  $\gamma$  per dag gewaarborgd wordt. Indien een gecombineerde strengaandoening bestaat en ook als er complicaties zijn, verdient een hogere dosering waarschijnlijk de voorkeur.



De dosering bij de voortgezette behandeling moet individueel zijn. Zo is b.v. voor de ene patiënt 15  $\gamma$  per 3 weken voldoende om hem in optimale conditie te houden. Een andere patiënt heeft echter veel meer nodig. Volgens WILKINSON 49), die een uitgebreide ervaring heeft, is soms 60-100  $\gamma$  per week nodig voor de handhavingsbehandeling. In gevallen van gecombineerde strengaandoening lijkt ons  $\pm 5$   $\gamma$  per dag, dus 2 x per week 15-20  $\gamma$ , gedurende minstens 6 maanden zeker noodzakelijk. De stoottherapie met b.v. 1000  $\gamma$  vitamine B12 per keer met grote tussenperioden werd toegepast door WALKER en HUNTER 50), die echter van mening waren, dat deze behandeling niet aanbevelenswaardig is.

Men is bij de orale behandeling er nooit zeker van, of de patiënt het hem voorgeschreven medicament wel inneemt. Dit is een groot bezwaar, zolang de neiging bij hem bestaat, zich aan de voortgezette behandeling te onttrekken, zoals maar al te vaak het geval is. We hebben aanwijzingen gevonden voor een stoornis van de resorptie in de tractus intestinalis (zie Hoofdstuk VI). Bovendien schuilt er in de orale therapie een element van onzekerheid, zolang wij niet over een eenvoudige, betrouwbare ijking beschikken voor intrinsic factor-praeparaten.

### Megaloblastaire anaemie na maagresectie

Bij deze vorm van anaemie is een gebrek aan intrinsic factor, evenals bij de pernicieuse anaemie, van centrale betekenis.

J.v.W.-S., oud 37 jaar, werd voor het eerst onderzocht in 1942. Er werd een ulcus duodeni gevonden. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur (maximaal 45/65) in 1942 en ook in 1944, toen zij weer werd opgenomen (maximaal 41/71). In 1944 had zij stenoseklachten. Er werd een grote resectie verricht volgens BILLROTH II.

In 1951 werd zij opnieuw naar ons verwezen. Zij klaagde toen over moeheid en paraesthesiën in de armen en benen. Zij had nu en dan diarrhoë. Vlak na de maaltijden had zij last van palpitaties, zweten en hoofdpijn.

Bij deze vermagerde, bleke vrouw vonden we een gladde tong, rhagaden aan de mondhoeken en lepeltjesnagels. Een systolisch geruis was hoorbaar over het hele hart. De milt was palpabel. Er was een matig ernstige polyneuritis. Het maagsap bevatte geen vrij zoutzuur, ook niet na histaminetoeediening. Bij het Röntgenologisch maagonderzoek werd een kleine maag gevonden met snelle passage. In het beenmerg was een sterke hyperplasie van de rode reeks met uitgesproken megaloblastaire veranderingen. Bloedbilirubine 1,4 E. Serumijzer 169  $\gamma$  %. Urine: urobiline +++.

Bloedbeeld: Hb 4,2 g%, erythroc. 1.000.000, leucoc. 5800, diff.: g.b., reticuloc. 0,7%.

Zij kreeg een bloedtransfusie van 400 ml., waardoor het Hb steeg tot 6,5 g% en het aantal erythroc. tot 1.780.000. Daarna werd op 3 opeenvolgende dagen 15  $\gamma$  vitamine B12 i.m. gegeven. Op de 7de dag had zij een reticulocytentop van 15,8%. Op de 13de dag was het Hb 9,7 g% en het aantal erythroc. 2.680.000. De tongklachten verdwenen in 4 dagen, terwijl na een week duidelijke regeneratie van het epitheel zichtbaar was. Gedurende 3 weken bleef het Hb ondanks voortgezette vitamine B12-therapie ongeveer 10 g%, hoewel het aantal erythroc. steeg tot 3.400.000. Het serumijzergehalte was gedaald tot 49  $\gamma$ %. Er werd toen ijzer per os gegeven naast de vitamine B12-injecties, waarop een nieuwe reticulocytenstijging van 0,7 tot 2,8% optrad. Bij ontslag was het Hb 10,9 g% en het aantal erythroc. 4.220.000. Patiënte voelde zich veel beter.

In 1953 werd zij wederom met megaloblastaire anaemie opgenomen (Hb 3,4 g%). Gedurende de tussenliggende 2 jaar had zij alleen zo nu en dan ijzer gebruikt.

H.K., oud 75 jaar, werd 11 jaar voor opnemng geopereerd wegens ulcus duodeni. Er werd toen vrij zoutzuur in het maagsap gevonden. De operatie bestond uit een BILLROTH II-resectie. Bij opnemng klaagde hij over vermoeidheid, een zwaar gevoel in het epigastrium en dyspnoe. Hij was bleek, maar niet geel. Er bestond een matige dementie door arteriosclerose. De tong had een normaal aspect. Lever en milt waren niet palpabel. Reflexen en sensibiliteit waren intact. Hij had diabetes mellitus, waarvoor hij met een dieet zonder insuline behandeld werd. Er was een histamine-refractaire achylie. Bloedbilirubine 0,9 E. Serumijzer 160  $\gamma\%$ . Urine: urobiline ++. Beenmerg: matige erythropoiese met enkele megaloblasten. Bloedbeeld: Hb 7,9 g%, erythro. 1.460.000, leucoc. 5800, diff.: g.b., anisocytose, poikilocytose en polychromasie van de rode cellen, hypersegmentatie van de witte cellen, diam. erythro. 8,4  $\mu$ , thromboc. 177.000, reticuloc. 0,8%.

Patiënt kreeg op 3 opeenvolgende dagen 15  $\gamma$  vitamine B12 per injectie. Het aantal reticuloc. steeg tot 3,9% op de 7de dag. Na 14 dagen was het Hb 9,5 g% en het aantal erythro. 2.490.000, bij contrôle na 3 maanden 11,6 g% en 4.000.000.

R.S., een man van 64 jaar, werd voor het eerst opgenomen in 1922 onder de diagnose chronische bronchiitis en emphyseem. In 1933 werd opnieuw opnemng nodig geoordeeld. Vijf jaar te voren had hij bloed gebraakt. Hij klaagde over pijn in de bovenbuik, die niet verbeterde na bedrust. Bij Röntgenologisch maagonderzoek werd een ulcus aan de kleine curve gevonden. Hij werd overgeplaatst naar de afd. Heelkunde. Er werd een resectie (BILLROTH II-POLYA) gedaan. Een groot stuk van de maag moest verwijderd worden, omdat het ulcus hoog aan de kleine curve zat en in de alvleesklier was gepenetreerd.

In 1939 werd hij opnieuw onderzocht wegens klachten over moeheid en duizeligheid. Hij was bleek en had lepeltejesnagels. De tong was normaal. Bloedbeeld: Hb 40% Sahli, erythro. 3.900.000, anisocytose en poikilocytose, diam. erythro. 7,4  $\mu$ . Faeces: occult bloed neg. Het maagsap bevatte geen vrij zoutzuur, ook niet na histaminetoeediening. Gastroscoopie mislukte. Hij werd behandeld met ac.hydrochlor.dil. en ijzer. Het aantal reticuloc. steeg niet, maar het Hb reageerde langzaam: na 4 weken 56% en na 2 maanden 67%. 8 Maanden later was het Hb 90%, erythro. 5.200.000.

In 1949 werd hij enige maanden op de afd. Psychiatrie verpleegd wegens een psychotische episode. De diagnose werd gesteld op cerebrale thrombose. Hij kreeg ferton ter bestrijding van lichte bloedarmoede.

In 1950 werd opnemng op de Interne afd. nodig geacht. Patiënt was bij binnenkomst bleek, cyanotisch en licht icterisch. Er waren basaal over beide longen rhonchi hoorbaar. Lever en milt waren niet palpabel. Hij had uitgebreide oedemen. Bloedbeeld: Hb 9,5 g%, erythro. 2.100.000, leucoc. 3600, diff.: eos. leucoc. 1, staafk. leucoc. 2, segmentk. 58, lymphoc. 38, monoc. 1, anisocytose en poikilocytose, thromboc. 57.500, reticuloc. 0,4%. In het beenmerg werden veel megaloblasten en enige reuzenstaven gezien. Bilirubine 2,4 E. Er werd wederom een histamine-refractaire achylie gevonden. Patiënt kreeg 15  $\gamma$  vitamine B12 per injectie op 3 opeenvolgende dagen. Er was een reticulocytencrisis van 18,6% op de 7de dag. Op de 19de dag was het Hb 12,5 g%, erythro. 3.640.000. Na 7 maanden (2 ml. leverextract per 14 dagen) was het Hb 12 g%, erythro. 4.500.000.

De uitgebreide oedemen deden aanvankelijk denken aan rechtsdecompensatie ten gevolge van de chronische longafwijkingen. De veneuse druk was echter normaal. Amyloidose werd uitgesloten door de normale uitkomst van de Congoroodproef en het eiwit-spectrum: albumine 3,63%, globuline 1,45%, totaal 5,08%. Patiënt kreeg een zout-arm dieet. Na een totaal van 60  $\gamma$  vitamine B12 was zijn lichaamsgewicht gedaald van 72,0 kg. tot 62,6 kg. in 3 weken, terwijl het oedeem grotendeels verdwenen was. Dit diuretische effect van vitamine B12 werd ook waargenomen door BARNARD 51).

G.A., een man van 46 jaar, werd in 1951 opgenomen. In 1939 was bij hem maag-resectie (BILLROTH II) verricht wegens perforatie.

Hij klaagde sinds 6 maanden over hoofdpijn en sinds 4 weken over diarrhoe. Op de polikliniek werd gevonden: Hb 10,9 g%, erythro. 2.620.000, diam. 8,2  $\mu$ , leucoc. 9900, diff.: g.b. Serumijzer 102  $\gamma\%$ . Bilirubine 1,65 E. Het beenmerg bevatte veel megaloblasten en een sporadische reuzenstaaf. Patiënt werd 3 weken later opgenomen. Het Hb was toen (17/8) 8,8 g%, erythro. 2.300.000. Tijdens de volgende 10 dagen ging patiënt er veel beter uitzien, zonder dat specifieke therapie gegeven werd. Hij voelde zich beter en kreeg meer eetlust. Op 22/8 was het aantal reticuloc. 5,9%, op 28/8 4,4%. Op 30/8 was het Hb 9,6 g%, het aantal erythro. 2.900.000. Het beenmerg bevatte op die dag praktisch geen megaloblasten meer.

Waarschijnlijk hebben we hier te maken gehad met de spontane remissie, een verschijnsel, dat oudere klinici wel bekend is. Bij ontslag was het Hb 12 g%, het aantal erythro. 3.500.000. Na 1 jaar orale behandeling met een praeparaat van vitamine B12 en intrinsic factor bedroeg het Hb 14,3 g%, erythro. 4.500.000.

W.H., man, geboren in 1902, werd voor het eerst op onze afdeling opgenomen in 1942. Op de maagfoto's werd een uitsparing aan het antrum gezien, zodat de diagnose gesteld werd op carcinoma ventriculi. Er werd een histamine-refractaire achylie gevonden.

Na overplaatsing naar de afdeling Heelkunde werd BILLROTH II-resectie uitgevoerd (Dr. BOEREMA).

Patiënt hield na de operatie klachten over een vol gevoel in de maagstreek. Röntgenologisch maagonderzoek in 1944 en in 1946 gaf steeds hetzelfde beeld van

een wat starre kleine curvatuur te zien, zodat aanvankelijk gedacht werd aan een lokaal recidief van het carcinoom.

In 1944 klaagde hij over moeheid. Hiervoor werd hij behandeld met 2 leverinjecties per week. Hij Knapte hierdoor goed op.

Patiënt kreeg weer lasten in 1949, hoewel hij nog steeds 1 x per week een injectie kreeg. Volgens de familie was hij al lang erg bleek. De tong was pijnlijk, terwijl bij inspectie atrophie zichtbaar was. De sclerae waren licht-geel. Bloedbeeld: Hb 4,2 g%, erthroc. 900.000, diam. 8,1  $\mu$ , leucoc. 2600, diff.: eos.leucoc. 1, segmentk. 47, lymphoc. 46, monoc. 2, verder 4 kernhoudende rode cellen, die op megaloblasten geleken en anisocytose, poikilocytose en polychromasie. Het beenmerg toonde hyperplasie van de rode reeks met sterke megaloblastaire veranderingen en reuzenstaven in de witte reeks. Urine: urobiline +++. Ook nu werd een histamine-refractaire achylie gevonden. Bij het Röntgenologisch maagonderzoek werden geen verdachte verschijnselen gevonden. Ook gastroscopie leverde geen aanknopingspunten op voor het bestaan van een recidief.

Er werd een bloedtransfusie van 800 ml. gegeven, waardoor het Hb steeg tot 5,6 g% en het aantal erythroc. tot 1.400.000. Op 3 opeenvolgende dagen werd 1,5 ml. leverextract ingespoten, waardoor een reticulocytencrisis van 16,2% op de 7de dag na de 1ste injectie optrad. Na 14 dagen was het Hb 8,6 g%, erythroc. 2.400.000.

In 1952 was het Hb 13,1 g%, het aantal erythroc. 4.040.000. Patiënt kreeg toen 1 x per 14 dagen een injectie van leverextract.

Het leverextract, dat vóór de opname in 1949 werd gegeven, is dus waarschijnlijk van inferieure kwaliteit geweest.

A.D., een man geboren in 1896, werd in 1942 opgenomen met een ulcus duodeni. Er werd toen vrij zoutzuur gevonden (maximum 50/63).

In 1944 werd hij geopereerd in een ander ziekenhuis.

Sinds het einde van 1950 klaagde hij over een doof gevoel in armen en benen. Verder had hij moeilijkheden met het lopen. Voor deze lasten werd hij in Maart 1951 op de Neurologische afd. opgenomen, waar de diagnose gecombineerde strengaandoening werd gesteld. Hb 107%, erythroc. 5.110.000, leucoc. 8000, diff.: g.a. De behandeling bestond uit leverextract en vitamine B1 per injectie.

Drie weken later werd hij doorgestuurd naar de Interne polikliniek. Het algemeen onderzoek leverde geen afwijkingen op. Er bestond een histamine-refractaire achylie. Hb 14 g%, erythroc. 5.800.000. Röntgenologisch maagonderzoek gaf een BILLROTH II-resectiemaag te zien zonder verdere afwijkingen. Het volume van de stomp was als normaal te beschouwen.

W.T.-B., oud 60 jaar, werd voor het eerst opgenomen in 1948 met een hypochrome anaemie: Hb 55% Sahli, erythroc. 3.900.000. Deze anaemie werd veroorzaakt door een carcinoom van de cardia. Gefractioneerd maagonderzoek toonde het bestaan van een histamine-refractaire achylie aan.

Op de Chirurgische afd. werd een totale maagresectie met milttextirpatie verricht (Prof. Dr. L.D. EERLAND).

4 Jaar later kwam deze vrouw op de polikliniek met klachten over moeheid en tongpijn sinds enige maanden. Ook had zij paraesthesiën in de extremiteiten. Het fysisch onderzoek leverde geen afwijkingen op, behalve een wat gladde tong. Bloedbeeld: Hb 11 g%, erythroc. 1.900.000, diam. 8,5  $\mu$ , leucoc. 6400, diff.: eos.leucoc. 3, segmentk. 36, lymphoc. 56, monoc. 5, verder anisocytose, poikilocytose en hypersegmentatie van de granuloc., bovendien HOWELL-JOLLY-lichaampjes, schietschijfcellen en 12 orthochromatische normoblasten per 100 witte cellen. Megaloblasten werden niet gezien. Bilirubine 4 E. Serumijzer 260  $\gamma\%$ . Urine: urobiline +++. Op grond hiervan werd de diagnose gesteld op megaloblastaire anaemie na maagresectie. Toen zij 14 dagen later werd opgenomen, bleek, dat de huisarts intussen enige leverinjecties had gegeven. Het beenmerg was zeer actief, bevatte reuzenstaven en mis-schien nog een enkele megaloblast. De neuroloog vond links een aanduiding van een BABINSKI, verder geen aanwijzingen voor gecombineerde strengaandoening. Zij voelde zich subjectief al beter, de tongklachten waren verdwenen. De invloed van de therapie bleek ook uit het bloedbeeld: Hb 13,6 g%, erythroc. 3.240.000 en het serumijzer: 98%  $\gamma\%$ . Er bestond een histamine-refractaire achylie.

Megaloblastaire anaemie na maagresectie werd dus door ons gezien in zeven gevallen.

Eén van deze patiënten onderging totale gastrectomie. Vier jaar later ontwikkelde zich bij haar anaemie.

Bij de andere zes patiënten werd een deel van de maag verwijderd. Volgens LYNGAR<sup>52)</sup>, die een uitgebreide studie maakte van de haematologische afwijkingen na partiële gastrectomie, en HELLEMANS<sup>53)</sup> komt het slechts zelden voor, dat de anaemie, optredend na maagresectie, van het megaloblastaire type is. WINTROBE<sup>3)</sup> is van oordeel, dat slechts

19 gevallen, vermeld in de literatuur, de toets der critiek kunnen doorstaan.

Wij hebben ons dan ook afgevraagd, wat de oorzaak was van het feit, dat wij in drie jaar zes patiënten konden bestuderen.

Bij W.H. werd slechts een klein gedeelte van de maag, het antrum, verwijderd. In het resectie-praeparaat, dat in het archief van het Pathologisch-Anatomisch Laboratorium (T 26312) wordt bewaard, was geen fundusslijmvlies te vinden. Het deel van de maag, verantwoordelijk voor de productie van de intrinsic factor, is dus niet gerececeerd. Waarschijnlijk bestaat hier dus een insufficiëntie van de mucosa van de fundus, zodat we een genuiene anaemia pernicioosa moeten aannemen. Hiermee in overeenstemming is ook de afwezigheid van vrij zoutzuur vóór de operatie. Op het samengaan van perniciose anaemie en maagcarcinoom is reeds herhaaldelijk gewezen 54, 55).

Bij R.S. en J.v.W.-S. was verreweg het grootste deel van de maag gerececeerd. In coupes, gemaakt van het fundusslijmvlies van J.v.W.-S., werden geen afwijkingen gevonden, met name geen atrophie (T 31901).

In het praeparaat van G.A. (T 20340) bleek atrophie van het fundusslijmvlies te bestaan. Het beeld kwam volgens collega EIBERGEN overeen met dat van de mucosa bij genuiene perniciose anaemie. Bij deze patiënt hebben wij dus waarschijnlijk te maken met een genuiene perniciose anaemie. Een samengaan van ulcus en anaemia pernicioosa is zeer zeldzaam 56).

Samenvattend kunnen wij zeggen, dat twee van onze zes patiënten waarschijnlijk lijden aan genuiene perniciose anaemie. Bij twee anderen zal de resectie wel de oorzaak zijn van het tekort aan intrinsic factor, terwijl van de overige twee gevallen niets met enige zekerheid is te zeggen.

### Megaloblastaire voedingsanaemie

Megaloblastaire anaemie door eenzijdige voeding is vooral bestudeerd door klinici, die in de tropen werkten, zoals LUCY WILLS 57). In de gematigde luchtstreken komt dit ziektebeeld in het algemeen weinig voor. De voeding is hier over het geheel beter, zodat deze deficiëntieziekte alleen onder zeer bijzondere omstandigheden wordt gezien. Het beeld was aan de paediatr wel bekend. BROUWER 58) toonde aan, dat bij zuigelingen, die gevoed werden met geitenmelk, vaak megaloblastaire anaemie optrad, die verbeterde, als de patiëntjes karnemelkvoeding kregen. In de interne kliniek is de megaloblastaire voedingsanaemie voor het eerst beschreven door GROEN en SNAPPER 59, 60).

VAN DETH 61) nam onlangs een geval van megaloblastaire anaemie waar bij een vegetariër. Aanvankelijk zag hij een goede reactie op foliumzuur, maar later trad achteruitgang op. De patiënt kreeg opnieuw anaemie en bovendien ontstonden er

verschijnselen van gecombineerde strengaandoening. Met vitamine B12 werd definitieve genezing bereikt. VAN STEENIS 62, 63) daarentegen zag bij enkele van zijn patiënten met megaloblastaire voedingsanaemie juist géén effect van gezuiverd leverextract, terwijl foliumzuur zeer goede resultaten gaf. Hetzelfde werd waargenomen door PETRIDES en NIEDERMEIER 21).

Mevr. T.B.-K., oud 52 jaar, werd in Mei 1950 opgenomen met longafwijkingen. Sinds 8 jaar had zij recidiverende neuritis in beide armen. Tijdens haar verblijf in de kliniek ontwikkelde zich een pleuritis. Verder ontstonden belangrijke nierafwijkingen. De urea clearance daalde van 79% tot 27%. De urine bevatte 2½% albumen, terwijl in het sediment zeer veel erythrocyten en veel leucocyten te zien waren. Tensie 180/95. Bloedbeeld: Hb 12,8 g%, erythrocyten 5.200.000, leucocyten 5500, diff.: g.b. Bovendien werd opgemerkt, dat een systolisch geruis hoorbaar werd aan de hartpunt. Patiënte kreeg ook een dubbelzijdige conjunctivitis. De temperatuur werd hoog. Antibiotica en sulfonamiden hadden geen invloed op de koorts. Pyramidon bleek echter effectief. In een proefexcisie van spierweefsel werden histologisch geen aanwijzingen voor periarteriitis nodosa gevonden. Gezien het verhoogde ureumgehalte (540 mg./l.) werd de eiwittoevoer beperkt. Zij kreeg geen melk of melkproducten, geen eieren, geen vis en slechts een kleine hoeveelheid vlees (30-40 g. per dag).

In Dec. 1950 bleek het longbeeld opgehelderd te zijn. Bloedureum 530 mg./l. Het eiwitarme dieet werd voortgezet.

In Jan. 1952 werd patiënte weer opgenomen met koorts en een verergering van haar nierlijden. Het bloedureum steeg tot 4100 mg./l. Urine: albumen 1,6%, sediment: zeer veel erythrocyten, enkele leucocyten. De eiwittoevoer werd tot practisch nihil gereduceerd.

Ongeveer 6 weken later werd sternumpunctie gedaan om te zoeken naar L.E.-cellen, omdat het klinische beeld verdacht was voor de ziekte van LIBMAN-SACHS. Het onderzoek op L.E.-cellen had een negatief resultaat. Wél bleken er megaloblastaire veranderingen in de haematopoiese te bestaan.

Het vitamine B12-gehalte van het serum bedroeg 0,18 γ/ml.

Het serumijzergehalte was 189 γ%. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur, zodat perniciëuse anaemie wel was uitgesloten, terwijl spruw zeer onwaarschijnlijk geacht moest worden op grond van de normale glucosecurve. Microscopisch en macroscopisch waren de faeces normaal. Een chemische vetbepaling werd niet gedaan wegens de bezwaren van het SCHMIDT's dieet voor deze patiënte.

Na 12 dagen therapie met vitamine B12 (15 γ i.m. per dag) bleek het Hb gestegen te zijn van 7,7 g% tot 9,5 g% en het aantal erythrocyten van 2.300.000 tot 3.200.000. Een duidelijke reticulocytencrisis trad niet op. Maximaal bedroeg het aantal reticulocyten 4%.

Verdere controle was onmogelijk doordat patiënte naar huis wilde. Na 2 maanden thuis voortgezette therapie bleek bij poliklinische controle het Hb 14,4 g% te zijn en het aantal erythrocyten 4.970.000, hoewel het bloedureum nog 680 mg./l. bedroeg.

Mevr. T.M.-P., oud 42 jaar, werd in het Diaconessenhuis (Dr. L.MEYLER) opgenomen, omdat zij al geruime tijd sukkelende was. De belangrijkste klachten waren: sterke moeheid, duizeligheid en hoofdpijn. De kleur van de huid was bij onderzoek iets gelig-bleek, de slijmvliezen waren duidelijk anaemisch. De randen van de tong waren wat glad. Verder leverde het algemeen onderzoek geen afwijkingen op.

Laboratoriumonderzoek bracht een flinke anaemie aan het licht. Bloedbeeld: Hb 8 g%, erythrocyten 1.600.000, leucocyten 5500 met normale verdeling, echter hypersegmentatie en thrombocyten 312.000. Het beenmergpunctaat gaf een duidelijke megaloblastaire bloedaanmaak te zien. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur (42/56). Het quantitatief vetonderzoek van de faeces na SCHMIDT's dieet gaf dit resultaat: 33% totaal vet van de droogrest. Een volgende keer werd 17% vet aangetoond. Bilirubine indirect 2,4 E. Eiwit spectrum: albumine 3,6%, globuline 3,2%. HANGER-test: na 24 uur +3, na 48 uur +4.

Gezien de duidelijke megaloblastaire anaemie met daarnaast vrij zoutzuur in het

maagsap en het ontbreken van duidelijke steatorrhoe, werd een nauwkeurige voedings-anamnese opgenomen. Hieruit bleek, dat deze vrouw gedurende 6 jaar geen vlees, geen vis, geen eieren, geen melk en geen kaas gebruikt had. De reden hiervan was, dat men vroeger bij haar een chronische nieraandoening met hypertensie had geconstateerd. Deze nieraandoening was in aansluiting aan de 2de zwangerschap ontstaan. Zij is toen tijdelijk amnurotisch geweest; het kindje werd dood geboren.

De tensie was bij binnenkomst 230/140 en zakte na enkele dagen tot 150/90. Het bloedureumgehalte was normaal (240 mg./l.). De urine bevatte een spoortje eiwit, het sediment was normaal.

Patiënte kreeg een normaal, zoutarm dieet en vitamine B12. De reticulocytenecrisis was zeer duidelijk (van 1,5% op 26%). Bij ontslag na 2½ week was het bloedbeeld als volgt in gunstige zin veranderd: Hb 12,1 g%, erythroc. 3.600.000. De algemene toestand verbeterde zienderogen. Twee maanden later was het Hb 15,4 g%. Na ontslag had zij geen vitamine B12-injecties meer gekregen.

Hoewel in Nederland de megaloblastaire voedingsanaemie als een zeldzaam voorkomende ziekte wordt beschouwd, is het toch gewenst op het voorkomen ervan bedacht te zijn, omdat dit beeld kan optreden als gevolg van de therapeutische toepassing van een eiwitarm dieet. Beperking van de eiwittoevoer is geïndiceerd bij nierlijders met gestoorde ureumuitscheiding.

Dat wij deze en andere schadelijke gevolgen van een eiwitarm dieet niet vaker zien, zal wel een gevolg zijn van het feit, dat het dieet meestal gedurende betrekkelijk korte tijd wordt toegepast. Voordat deficientieverschijnselen kunnen optreden, is de patiënt gewoonlijk of genezen of overleden.

Indien eiwitarme voeding over langere tijd moet worden volgehouden, is het op grond van onze ervaringen gewenst leverextract toe te dienen. Deze maatregel kan ertoe bijdragen, dat de patiënt langer in redelijke conditie blijft.

Het is gebleken, dat vitamine B12 - althans bij de rat op een laag eiwitdieet - een vermindering van de excretie van N (ureum en aminozuren) veroorzaakt <sup>64</sup>). Het is mogelijk, dat vitamine B12 de utilisatie van eiwit verbetert en ook daardoor een gunstige invloed heeft.

### Megaloblastaire anaemie in zwangerschap en puerperium

Dit ziektebeeld was eens zeer gevreesd wegens de hoge mortaliteit. Tegenwoordig is de prognose goed.

Aangezien de ziekte niet zo zeldzaam is als men vrij algemeen veronderstelt, is het van belang er nog eens op te wijzen, dat het onderzoek van het perifere bloedbeeld ons niet altijd op het spoor brengt van deze anaemie. DAVIDSON en DAVIS <sup>65</sup>) hebben erop gewezen, dat de anaemie normochroom en zelfs hypochroom kan zijn. In vele gevallen is dus cytologisch beenmergonderzoek noodzakelijk om tot de juiste diagnose te komen.

De ziekte begint meestal in de laatste drie maanden van de graviditeit. Soms wordt de diagnose pas gesteld in het puerperium. Een karakteristiek kenmerk is, dat de anaemie niet recidiveert als men de behandeling staakt, wanneer de

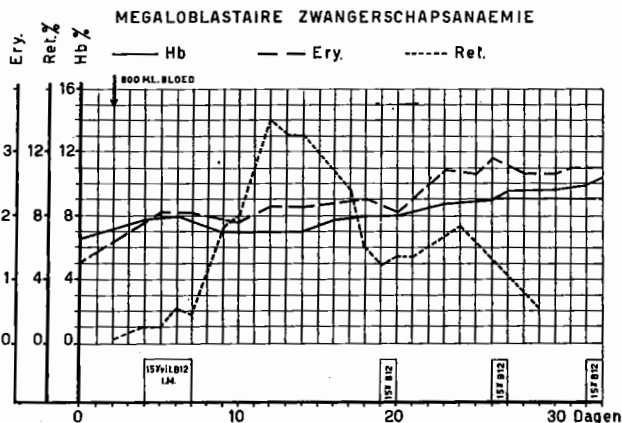
patiënte in remissie is. Bij perniciëuse anaemie treedt altijd na een kortere of langere periode een recidief op, indien de therapie gestaakt wordt. Bij de megaloblastaire zwangerschapsanaemie vindt men vaak vrij zoutzuur in het maagsap, soms is er achloorhydrie. In deze laatste gevallen is het aanbevelenswaardig na enige tijd het gefractioneerd maagonderzoek te herhalen, omdat de achloorhydrie na behandeling van de anaemie kan verdwijnen. Dit is van essentieel belang, omdat megaloblastaire anaemie in de graviditeit de eerste manifestatie van genuiene perniciëuse anaemie kan zijn, zoals wij in één geval waarnemen. Deze vrouw werd in 1931 opgenomen met megaloblastaire anaemie in de graviditeit. Bij haar bestond een histamine-refractaire achylie. Zij werd behandeld met lever per os. Later kreeg zij injecties van leverextract, omdat bij onderbreken van deze therapie weer anaemie optrad.

Een andere oorzaak van megaloblastaire anaemie in de zwangerschap en in het puerperium, waarmee men rekening dient te houden, is spruw.

A.W.-V., oud 27 jaar, beviel op 17 Dec. 1949. Het kind was gezond. Enige dagen na de partus kreeg patiënte koorts. De lochia waren normaal. Zij was bleek. Zij kreeg een bloedtransfusie van 800 ml. op de Obstetrische afd. Bovendien kreeg zij ijzer per os.

Toen zij voor het eerst door de internist gezien werd, was zij nog anaemisch. Zij had glossitis. De milt was niet palpabel. Ook na histaminetoediening was er geen vrij zoutzuur in het maagsap. Bilirubine 1,2 E. Serumijzer 162  $\gamma\%$ . Het beenmerg was megaloblastair. Diam. erythrocyt. 8  $\mu$ .

Op 27 Dec. werd begonnen met vitamine B12-behandeling. De resultaten van de therapie zijn weergegeven in fig. 3.



Figuur 3.

Vier weken na het begin van de behandeling werd het gefractioneerd maagonderzoek herhaald. Toen werd vrij zoutzuur gevonden tot een maximum van 44/62. Hierdoor was genuiene perniciose anaemie wel uitgesloten.

Omdat het vetgehalte van de droogrest van de faeces sterk verhoogd bleek te zijn (totaal vet 50% van de droogrest, 24% neutraal vet, 76% gesplitst vet), werd de diagnose inheemse spruw gesteld. Naderhand vonden wij bij vele van de door ons bestudeerde gevallen met megaloblastaire anaemie in de graviditeit steatorrhoe. Bij deze patiënte was 15 maanden later het vetgehalte van de ontlasting normaal (totaal vet 29% van de droogrest). Het Hb was toen 13,8 g%, het aantal erythrocyten 4.500.000.

A.L.-v.d.L., oud 23 jaar, kwam in Nov. 1950 op onze polikliniek. Het Hb was toen 12,5 g%. In April 1951 werd zij op verzoek van de huisarts opgenomen wegens bloedarmoede, die verergerde ondanks ijzertherapie. Zij was toen 8 maanden zwanger. Haar klachten waren: dyspnoe d'effort, hoofdpijn, moeheid en oedeem. Zij had gedurende de gehele zwangerschap veel gebraakt, pas de laatste weken was dit verbeterd. Het onderzoek leverde bij deze vrouw op: een systolische soufflé over het hele hart, geen glossitis, geen lever- of miltvergroting. Er waren volgens de neuroloog coll. DRAYER geen afwijkingen van de kant van het zenuwstelsel.

Hb 5,4 g%, erythrocyten 1.200.000, leucocyten 10.000, diff.: 14 kernhoudende rode cellen, waaronder enkele megaloblasten, per 100 witte cellen. Beenmerg hyperplastisch megaloblastair. Na histamine-toediening werd in het maagsap vrij zoutzuur gevonden (maximum 34/48). Serumijzer 370 γ%. Bilirubine 1,2 E. Glucosebelastingscurve: nuchter 79 mg%, na 30 min. 174 mg%, 60 min. 149 mg%, 90 min. 73 mg%, 120 min. 65 mg%, 150 min. 74 mg%. Faeces: totaal vet 29% van de droogrest.

Patiënte kreeg een bloedtransfusie van 400 ml. Daarna was het Hb 6,2 g%, het aantal erythrocyten 1.500.000. Op 18, 19 en 20 April kreeg zij 15 γ vitamine B12 i.m. Reeds op de 3de dag na het begin van deze behandeling voelde zij zich subjectief beter. Ook haematologisch was er vooruitgang, er was een reticulocytenreactie van 17,3% op de 9de dag. Op 2 Mei was het Hb 9,07 g% en het aantal erythrocyten 2.180.000. Daarna werd 15 γ vitamine B12 om de andere dag toegediend tot 13 Mei, toen zij beviel van een gezond kind. Op 18 Jan. 1952 was het Hb 12,8 g%, erythrocyten 4.710.000.

T.K.-W., oud 26 jaar, werd in Juli 1951 opgenomen wegens pleuritis. Zij klaagde ongeveer 9 weken over pijn in de borst. Zij had geen tongpijn en geen diarree. Zij had een kind van 4 jaar en een tweeling van 18 maanden. Zij was ruim 8 maanden zwanger. Haar man werd verpleegd in een sanatorium wegens longtuberculose. Na de vorige bevalling had zij bloedarmoede gehad.

Bij het fysisch onderzoek werden bij deze bleke vrouw tekenen van pleuritis aan de rechterkant gevonden, verder was er een systolisch geruis over het hele hart hoorbaar. De neuroloog coll. DRAYER vond geen afwijkingen. De thoraxfoto en de bevindingen in het pleurapunctaat waren in overeenstemming met de diagnose tuberculeuse pleuritis.

Bilirubine 1,25 E. Serumijzer 147 γ%. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur. Hb 7,0 g%, erythrocyten 2.200.000, leucocyten 4900, diff.: eos. leucoc. 1, staafk. leucoc. 3, segmentk. 63, lymphoc. 29, monoc. 4, polychrom. megaloblast 1, verder anisocytose, poikilocytose en polychromasie. Faeces: totaal vet 42,7% van de droogrest, 39% neutraal vet, 61% gesplitst vet. Glucosebelastingscurve: nuchter 68 mg%, na 30 min. 145 mg%, 60 min. 109 mg%, 90 min. 102 mg%, 120 min. 105 mg%, 150 min. 109 mg%.

Patiënte kreeg op 3 opeenvolgende dagen 30 γ vitamine B12 i.m. Op de 11de dag had zij een reticulocytenreactie van 17,3%. Het aantal erythrocyten was toen 2.700.000, het Hb 8,6 g%. Zij kreeg daarna een bloedtransfusie van 800 ml., omdat gedacht werd, dat de partus zou beginnen. Zij werd doorbehandeld met 15 mg. foliumzuur per os. Er trad geen nieuwe reticulocytenreactie op. Op 18 Aug. beviel zij van een gezond kind.

Door Dr. MOLLIN en Dr. ROSS werden met de Euglena gracilis-techniek de volgende waarden gevonden voor de vitamine B12-activiteit van het serum: totaal 0,035, 0,040 en 0,030 my/ml. (normaal 0,100-0,720 met deze methode) en vrij < 0,040, < 0,040 en < 0,040 my/ml. (normaal 0,0100-0,680).

Gedurende de laatste 2 maanden zou volgens de inlichtingen, ons verstrekt door de patiënte, het gebruikte dieet adequaat geweest zijn.

T.W.-B., oud 40 jaar, had geelzucht van Mei tot Aug. 1949. Wegens klachten over moeheid en pijn in de linkerzij werd zij in Maart 1950 nagekeken door coll. VAN DER MOER, internist te Leeuwarden, die zo vriendelijk was ons zijn bevindingen te schrijven: de milt was 3 vingers onder de ribbenboog te voelen, Hb 62% Sahli, erythrocyten 2.910.000, leucocyten 1800, diff.: eos. leucoc. 4, basoph. leucoc. 1, staafk. leucoc. 7, segmentk. 65, lymphoc. 15, monoc. 8. Het aantal reticulocyten was laag, de BSE was normaal. Bilirubine 1,8 E. Het beenmerg bevatte veel eosinophile cellen, veel myeloblasten en normoblasten, enkele myelocyten. Behandeling met een leverpraeparaat had geen effect. Coll. VAN DER MOER overwoog als mogelijkheden hypersplenie en verworven haemolytische anaemie. Splenectomie oordeelde hij niet nodig op grond van de goede algemene toestand.

Patiënte werd eind Aug. 1951 in de Interne kliniek opgenomen wegens bloedarmoede. Zij had geen klachten. Zij was 6 maanden zwanger (6-para). Bij onderzoek werd een systolisch geruis over het hele hart gevonden. De lever was niet palpabel, de milt werd 3 vingers onder de ribbenboog gevoeld. De rechter schildklierkwab was vergroot. Bilirubine 1,5 E. Thymoltest 1,5 E. Alk. phosphatase 8 E. Galactoseproef



normaal. Serumijzer 207  $\gamma\%$ . Résistance globulaire 0,46-0,35% NaCl. COOMBS - test negatief. Ook na histamintoediening was er geen vrij zoutzuur in het maagsap. Faeces: totaal vet 32% van de droogrest, gesplitst vet 85%, neutraal vet 15%. Vitamine A-curve: 4 I.E.-240 I.E.-230 I.E.-60 I.E. Glucosebelastingcurve: nuchter 79 mg%, na 30 min. 162 mg%, 60 min. 186 mg%, 90 min. 130 mg%, 120 min. 94 mg%, 150 min. 54 mg%. Bloedbeeld bij binnenkomst: Hb 10,6 g%, erythroc. 2.710.000, reticuloc. 2,4%, thromboc. 157.000, leucoc. 4500, diff.: basoph.leucoc. 1, eos. leucoc. 2, staafk. leucoc. 4, segmentk. 72, lymphoc. 19. Het beenmerg toonde grote celrijkdom, de rode reeks was hyperplastisch en matig megaloblastair.

Belooft: De vrouw kreeg een hardnekkige infectie van de urinewegen. Gedurende deze periode daalde het Hb. De infectie werd eindelijk onderdrukt met streptomycine. Op 17/9 was het Hb 7,4 g%, erythroc. 2.010.000, reticuloc. 3,3%. Zij kreeg 15  $\gamma$  vitamine B12 i.m. op 18, 19 en 20/9. Op 27/9 bereikte het aantal reticulocyten een maximum van 4,1%. Op 28/9 was het Hb 7,7 g%, erythroc. 2.450.000. Daarom werd overgegaan op foliumzuurtherapie (15 mg. per os per dag). Het aantal reticuloc. bereikte een top van 8,0% op de 6de dag. Op 12/10 was het Hb 9,0 g%, erythroc. 2.700.000. Zij kreeg toen 3 x 400 ml. bloed. Op 22/10 was het Hb 11,8 g%.

Zij werd naar huis gestuurd met foliumzuurtherapie. Na de partus kwam patiënte in Dec. voor controle. Zij was toen in goede algemene toestand. De milt was nog altijd 3 vingers onder de ribbenboog palpabel. Hb 12 g%, erythroc. 4.160.000, reticuloc. 1,7%, leucoc. 4300, diff.: basoph. leucoc. 1, eos. leucoc. 2, staafk. leucoc. 7, segmentk. 73, lymphoc. 15, monoc. 2. Bilirubine 1,1 E. Thromboc. 207.000.

De oorzaak van de splenomegalie is niet duidelijk. De afwijking bestond ook al vóór deze graviditeit, waarin verschijnselen van deficientie opgemerkt werden. Uit de dieetanamnese bleek, dat zij weinig fruit, maar behoorlijk groenten gebruikte. Zij kreeg weinig kaas en dronk praktisch geen melk. Wel at zij bijna iedere dag karnemelkse pap en een klein stukje vlees. Geen vis of eieren. Zij reageerde slechts matig op de vitamine B12-therapie. Dr. MOLLIN en Dr. ROSS vonden in het serum: totaal 0,115, 0,105 en 0,095 mg/ml. vitamine B12, vrij 0,020, 0,020 en 0,020 mg/ml. Deze waarden waren volgens MOLLIN laag, maar niet zo laag als bij de onbehandelde genuiene perniciëuse anemie. Deze vrouw reageerde beter op de behandeling met foliumzuur, hoewel ook niet optimaal. Ofschoon geen gegevens over de foliumzuurconcentratie beschikbaar zijn, menen wij toch, dat we hier te maken hebben met een gecombineerde deficientie van vitamine B12 en foliumzuur.

A.W.-d.V., oud 26 jaar, onderging in 1951 een cholecystectomie. In April 1952 werd zij opgenomen met klachten over pijn aanvallen in de bovenbuik, uitstralend naar weerszijden en gepaard met misselijkheid en braken sinds 9 dagen. Verder had zij vaak neusbloedingen en tandvleesbloedingen. Zij kreeg gauw blauwe plekken.

Er werd gedacht aan pancreatitis.

Bij onderzoek viel de bleke kleur met gele sclerae op. Er was drukpijn in de bovenbuik. De milt was niet palpabel, de lever kwam even onder de ribbenboog uit. Er waren geen neurologische afwijkingen.

Hb 8 g%, erythroc. 1.900.000, diam. erythroc. 7,5  $\mu$ . Serumijzer 294  $\gamma\%$ . Bilirubine: direct neg., quant. 3,6 E. Thymol 2,6 E. Vitamine C 13 mg./l. Vitamine A-curve: 14-115-136-99 I.E./10 ml. Glucosebelastingcurve: nuchter 81 mg%, na 30 min. 109 mg%, 60 min. 146 mg%, 90 min. 136 mg%, 120 min. 133 mg%, 150 min. 99 mg%. Duodenaalsondage: diastase 25.600 E., trypsine 9 buisjes positief. Faeces: totaal vet 41% van de droogrest, vetzuren 19%, zepen 40% en neutraal vet 41% van het totaal. Het beenmerg bevatte veel megaloblasten en reuzenstaven.

Op 28/4 was het Hb gedaald tot 5,6 g%, erythroc. 1.490.000, zodat een bloedtransfusie van 800 ml. nodig geoordeeld werd. Hierdoor steeg het Hb tot 7,0 g% en het aantal erythroc. tot 2.120.000. Patiënte kreeg toen 45  $\gamma$  vitamine B12 i.m. op 3 opeenvolgende dagen. Klinisch was er geen verbetering. Het aantal reticulocyten steeg niet. Op 8/5 was het aantal erythroc. 2.190.000, het Hb 7,2 g% en het aantal reticuloc. 1,5%. Omdat vitamine B12 geen effect had, werd overgegaan op foliumzuur (15 mg. per dag per os). Daarna trad snel verbetering in de algemene toestand op. Op de 6de dag was er een reticulocytentop van 25,6%. Het Hb was 8,8 g% op de 8ste dag en het aantal erythroc. 2.510.000, op 5/6, dus na bijna een maand, 11,2 g% en 3.630.000. Op 11/7 beviel zij van een gezond kind. Bij een controle op 11/9, 6 weken na het staken van de behandeling met foliumzuur, was zij in goede toestand: Hb 11,2 g%, erythroc. 4.000.000. De milt was even te voelen.

K.d.J.-G., oud 38 jaar, werd opgenomen wegens bloedarmoede in de 8ste maand van de 9de zwangerschap. Zij voelde zich moe en klaagde over tongpijn.

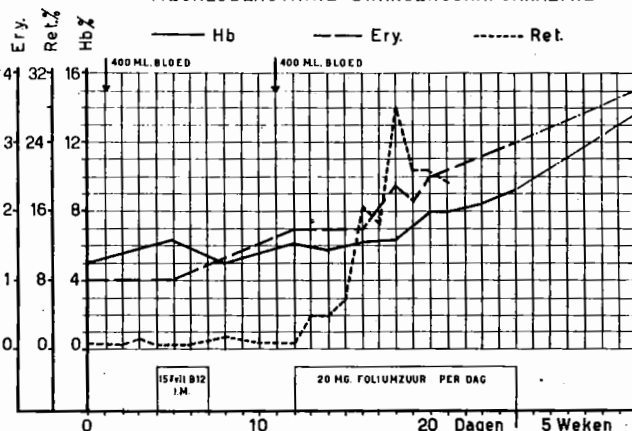
De tong was glad. De milt was 2 vingers onder de ribbenboog voelbaar. Er waren geen afwijkingen bij het neurologisch onderzoek.

Bilirubine 0,8 E. Serumijzer 355  $\gamma\%$ . Diam. erythroc. 7,5  $\mu$ . Faeces: totaal vet 29% van de droogrest. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur (maximaal 20/40).

Zoals uit fig. 4 blijkt, had behandeling met vitamine B12 geen effect. De toediening van foliumzuur daarentegen gaf een snelle verbetering in de algemene toestand. Ook in het bloedbeeld kwam dit tot uiting. De behandeling werd voortgezet tot 2 maanden na de bevalling. 6 Maanden later was het Hb 12,8 g%, erythroc. 4.240.000.

A.S.-B., oud 25 jaar, werd 10 dagen nadat zij bevallen was van een gezond kind in de Interne kliniek opgenomen. Dit was de 3de zwangerschap geweest. Zij voelde zich moe en had sinds 2 maanden tongpijn. Zij was gedesoriënteerd. De temperatuur

## MEGALOBLASTAIRE ZWANGERSCHAPSANAEMIE



Figuur 4.

was 40° C. De tong zag er normaal uit. De milt was palpabel. Gynaecologisch waren er geen afwijkingen.

Hb 4 g%, erythroc. 1.720.000, diam. 8,6  $\mu$ , leucoc. 7500, diff.: staafk. leucoc. 7, segmentk. 69, lymphoc. 16, monoc. 1. Bloedcultuur negatief. Urine: urobiline +++. Er werd vrij zoutzuur in het maagsap gevonden, maximum 6/10. Het beenmerg toonde een sterke hyperplasie van de rode reeks met megaloblasten.

De vrouw kreeg 4 x 400 ml. bloed. Daarna was het Hb 7,7 g%, erythroc. 1.750.000. De behandeling werd voortgezet met foliumzuur (15 mg. per dag per os). Op de 10de dag waren de reticuloc. gestegen van 0,9 tot 4,9%, Hb 8,3 g%, erythroc. 2.850.000. 26 Dagen na het begin van de behandeling met foliumzuur was het Hb 12,2%, erythroc. 3.750.000. De therapie werd voortgezet tot 100 dagen post partum. Bij de laatste controle, 8 maanden na de bevalling, waren de bloedwaarden 14,2 g%, resp. 4.350.000.

G.B.-W., oud 26 jaar, werd opgenomen met klachten over duizeligheid, moeheid, prikkelingen in armen en benen en een pijnlijke tong. De ontlasting was de laatste 2 maanden dun, niet frequent. Zij was 3 keer zwanger geweest, één keer was dit geëindigd in een abortus, twee keer was een gezond kind geboren.

Behalve bleekheid werden geen afwijkingen gevonden bij het lichamelijk onderzoek. Er bestond een histamine-refractaire achylie. Bilirubine 0,9 E. Serumijzer 98%. Hb 7,5 g%, erythroc. 2.500.000, diam. 7,5  $\mu$ , leucoc. 3800, diff.: eos. leucoc. 1, staafk. leucoc. 1, segmentk. 57, lymphoc. 38, monoc. 3, thromboc. 217.5000. Het beenmerg was duidelijk megaloblastair.

Patiënte kreeg aanvankelijk gedurende 10 dagen ijzer. Het Hb steeg niet, wel liepen de reticuloc. op tot 6,3% en het aantal erythroc. tot 3.300.000. Daarna werd 400 ml. bloed gegeven. De behandeling werd voortgezet met vitamine B12 (15  $\gamma$  per dag i.m.). Een reticulocyten crisis trad niet op, terwijl het aantal erythroc. slechts langzaam steeg. Na 10 dagen werd daarom begonnen met 20 mg. foliumzuur per dag. 18 Dagen na het begin van de foliumzuur therapie bereikte het Hb 10 g% en het aantal erythroc. 4.000.000. Het aantal reticuloc. liep op van 2% tot 4,6% op de 12de dag tijdens de behandeling met foliumzuur.

In dit geval zijn wij er niet in geslaagd met zekerheid een antwoord te geven op de vraag, of patiënte gebrek had aan vitamine B12 of aan foliumzuur. De mogelijkheid, dat deze vrouw leed aan genuiene perniciëuse anaemie, is niet afdoende uitgesloten.

Zij gebruikte slechts weinig dierlijk eiwit (wat kaas op de boterham, per dag één kopje melk). Het dieet was dus zeker niet optimaal, vooral niet voor een zwangere. Wij houden het voor mogelijk, dat de verbetering in het begin van het verblijf in de kliniek, toen de vrouw ijzer kreeg, berustte op de betere kwaliteit van het ziekenhuisdieet, waardoor later geen duidelijke reactie na vitamine B12- en foliumzuurtoediening optrad.

Bij onze patiënten met megaloblastaire zwangerschapsanaemie trad in drie van de acht gevallen sterke verbetering op na vitamine B12-toediening. Bij twee vrouwen daarentegen bleek de anaemie refractair te zijn tegen de behandeling met vitamine B12, terwijl met foliumzuur een volledige remissie bereikt werd. Bij de overige drie kan niet met zekerheid uitgemaakt worden, of vitamine B12 dan wel foliumzuur de ontbrekende factor was.

Ongetwijfeld is in een aantal gevallen het dieet, genut-

tigd door de vrouwen lijdende aan deze vorm van anaemie, niet optimaal geweest. Bovendien moet men rekening houden met een verhoogd verbruik van nutriënten tijdens de graviditeit. Hoewel hierover geen exacte gegevens bekend zijn, kan men er wel zeker van zijn, dat dit ook geldt voor vitamine B12 en foliumzuur. Aan deze stoffen, die essentieel zijn voor de celvermeerdering, zal de vrucht ongetwijfeld een grote behoefte hebben.

Omdat in een aantal gevallen van megaloblastaire zwangerschapsanaemie geen aperte dieetfouten zijn aan te wijzen, is ook naar andere oorzaken gezocht. Zo heeft men bv. wel een tijdelijke vermindering van de productie van de intrinsic factor naar voren gebracht als mogelijkheid. Bij patiënten met anaemie, die refractair is tegen behandeling met vitamine B12, is deze opvatting niet acceptabel.

Aangezien deze anaemie alleen voorkomt in de tweede helft van de graviditeit en de drie maanden daarop volgende, heeft men ook wel aan een endocrinologische oorzaak gedacht. Hiermee in overeenstemming is de waarneming van DAY, HALL en PEASE 66) bij één patiënte.

Bij enkele van onze patiënten is de hormoonuitscheiding in de urine bestudeerd door wijlen Dr. DINGEMANSE en Dr. HUIS IN 'T VELD (zie voor techniek 67)). Uit tabel 4 en fig. 5 blijkt, dat bij A.L.-v.d.L. inderdaad duidelijke afwijkingen gevonden werden, die gelijkenis vertonen met de door de Amerikaanse onderzoekers beschreven veranderingen. Zes maanden na de bevalling was het beeld geheel anders. Bij enkele andere patiënten werden geen duidelijke afwijkingen gevonden, evenmin bij de patiënte van THOMPSON en UNGLEY 68).

Tot een conclusie over de betekenis van deze verandering kan men niet komen, zolang niet meer gegevens beschikbaar zijn. Het ontbreken van de afwijking bij een aantal van de bestudeerde gevallen maakt het niet aannemelijk, dat deze aetiologische betekenis heeft.

Een andere mogelijkheid is, dat de hormonale stoornis een gevolg is van de deficientie. In hoofdstuk IV wordt er op gewezen, dat vitamine B12 en foliumzuur vooral invloed hebben op die organen, die gevoelig zijn voor Röntgenbestraling. Naast de bloedbereidende organen en het maagdarmkanaal zijn de gonaden zeer gevoelig voor bestraling. In deze richting wijst ook het door ons beschreven beeld van de testes bij H.V. (zie hoofdstuk V).

### Spruw

Het klinische beeld, dat wij aantreffen bij de lijder aan spruw, kan zeer sterk wisselen. De patiënt kan verschijnselen vertonen van beri-beri, van botpijn door osteoporose, maar vooral vindt men vaak anaemie. Lang niet altijd doet de anamnese van de spruwlijder denken aan een darmlijden, niet zelden

hebben de patiënten een normale of zelfs trage defaecatie. Hoewel het klassieke kenmerk van de volumineuse, lichtgekleurde en schuimende ontlasting ontbreekt, toont het laboratoriumonderzoek toch een resorptiestoornis aan. Hierbij wordt voornamelijk gebruik gemaakt van de volgende methoden van onderzoek: de glucosebelastingcurve, de vitamine A-belastingcurve, de bepaling van het vetgehalte van de droogrest van de faeces of de bepaling van de vetresorptie-coëfficiënt (VAN DE KAMER 69)). Een zorgvuldig Röntgenologisch darmonderzoek is nodig om het bestaan van anastomosen, stricturen en andere afwijkingen van de tractus intestinalis uit te sluiten. Ook vindt men vaak bij het Röntgenonderzoek een abnormale verdeling van de bariumpap, die kan wijzen in de richting van spruw.

De ziekten, die tot het spruwsyndroom gerekend worden, zijn de tropische spruw, de inheemse spruw, ook wel idiopathische steatorrhoe genoemd, en de coeliakie. Sommige auteurs beschouwen deze ziektebeelden als identiek, andere bestrijden dit hardnekkig (zie o.a. VAN STEENIS 70) en UNGLEY 33)).

#### Indische spruw

J.B., oud 23 jaar, werd opgenomen in de Interne kliniek 3 maanden nadat hij uit de tropen was teruggekeerd. Gedurende zijn militaire dienst en ook daarna had hij enkele aanvallen van malaria doorgemaakt. Hoewel hij zich tijdens de reis vrij goed gevoelde, merkte hij bij zijn thuiskomst op, dat zijn ontlasting dun, licht van kleur en schuimend was. Hij was vermagerd, anaemisch en icterisch. Er waren tandvleesbloedingen en pyorrhoea alveolaris. Lever en milt waren niet voelbaar. Röntgenonderzoek van de dunne darm toonde het bij spruw beschreven beeld. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur (maximaal 20/32). Glucosebelastingcurve: nuchter 97 mg%, na 30 min. 136 mg%, 60 min. 130 mg%, 90 min. 110 mg%, 120 min. 90 mg%, 150 min. 103 mg%. Faeces: totaal vet 76% van de droogrest, vetzuren 23%, zepen 60% en neutraal vet 17% van het totaal vet. Beenmerg: hyperplastisch-megaloblastair. Bloedbeeld: Hb 6,1 g%, erythroc. 2.230.000, leucoc. 4500, diff.: eosinoph. leucoc. 1, staafk. leucoc. 2, segmentk. 40, lymphoc. 57,1 polychrom. normoblast per 100 witte cellen, verder anisocytose, poikilocytose en polychromasie, thromboc. 177.500. Bloedingstijd en stollingstijd normaal. Bilirubine 4,2 E.

Patiënt kreeg 10 γ vitamine B12 per injectie op 3 opeenvolgende dagen. Op de 7de dag was het aantal reticuloc. gestegen van 4,2% tot 8,7%. Het Hb was toen 8,0 g%. Op de 19de dag was het Hb 10,4 g%, erythroc. 2.720.000. Dit ging gepaard met een opmerkelijke verbetering in de algemene toestand.

8 Maanden na ontslag uit het ziekenhuis zagen wij hem nog eens voor contrôle. Hij gevoelde zich uitstekend. Hij had 1-2 maal per dag ontlasting van normale kleur en consistentie. Hb 13,3 g%, erythroc. 5.160.000.

R.v.d.V., oud 25 jaar, ging in October 1946 naar Indonesië. In Dec. 1947 kreeg hij diarrhoe. Wegens deze lasten werd hij in Juni 1948 gerepatriëerd. Ongeveer 10 weken voor hij in Jan. 1950 werd opgenomen, kreeg hij pijn aan de tong. De faeces waren licht van kleur, volumineus en niet gebonden. Hij was anaemisch. Lever en milt waren niet palpabel. De tong was glad.

Maagzuurwaarden maximaal 46/56. Serumijzer 152 γ%. Bilirubine 0,8 E. Ca 8,68 mg%. Glucosebelastingcurve: nuchter 112 mg%, na 30 min. 120 mg%, 60 min. 110 mg%, 90 min. 123 mg%, 120 min. 114 mg%, 150 min. 126 mg%. Faeces: totaal vet 60% van de droogrest, zepen 40%, vetzuren 41% en neutraal vet 19% van de droogrest. Het beenmerg vertoonde hyperplasie van de rode reeks met enkele megaloblasten. Hb 10,6 g%, erythroc. 3.740.000, leucoc. 3900, diff.: eosinoph. leucoc. 1, segmentk. 62, lymphoc. 35, diam. erythroc. 8,1 μ, reticuloc. 0,4%.

De man werd behandeld met 15 γ vitamine B12 per injectie op 3 opeenvolgende dagen. Op de 10de dag was het aantal reticuloc. 6%. Later kreeg hij nog eens 15 γ vitamine B12, waarop een nieuwe stijging van 0,5 tot 3,7% optrad. 24 Dagen na het begin van de behandeling was het Hb 12 g%, erythroc. 3.900.000. Hij kreeg een vetarm dieet met 5 mg. foliumzuur per dag gedurende 6 maanden na zijn ontslag. 2 Maanden na het staken van de behandeling was zijn Hb 14,1 g%, erythroc. 4.300.000. Hij had geen diarrhoe en voelde zich uitstekend.

### Inheemse spruw

T.D., oud 17 jaar, was al enige jaren anaemisch. Zij was aanvankelijk behandeld met ijzer. Ongeveer 3 maanden voor de opname trad de eerste menstruatie op. Sinds die tijd had zij last van tongpijn en tandvleesbloedingen. Zij voelde zich moe. Zij had al enige jaren diarrhoe. Uit de familie-anamnese bleek, dat 2 andere kinderen uit het gezin overleden waren aan een bloedziekte.

Patiënte had een infantiele bouw. Zij was anaemisch. De milt werd niet gevoeld. Aan de tong zagen wij geen afwijkingen. Boven de hartpunt was een systolisch geruis hoorbaar.

Bilirubine 1,8 E. Maagzuurwaarden maximaal 10/18. Serumijzer 47  $\gamma$ . Bloedbeeld: Hb 3,5 g%, erythrocyt. 840.000, diam. 8,4  $\mu$ , leucoc. 3800, thromboc. 105.000. Beenmerg: matige hyperplasie van de rode reeks met megaloblastaire veranderingen. De faeces bevatten: totaal vet 44,6% van de droogrest, vetzuren 21%, zepen 59% en neutraal vet 20% van het totaal vet.

Het meisje werd behandeld met een bloedtransfusie van 800 ml., waardoor het Hb steeg tot 7,4 g%, het aantal erythrocyt. tot 1.940.000. Het aantal reticuloc. was 5,5%. Zij kreeg ijzer per os. Op de 5de dag was er een reticulocytenpercentage van 9,2%. Na 14 dagen werd begonnen met vitamine B12-therapie (3 injecties van 15  $\gamma$ ). Het Hb was toen 7,2 g%, erythrocyt. 2.070.000. Op de 6de dag werd een reticulocytenpercentage van 20% gezien. Drie weken na het begin van de behandeling met vitamine B12 was het Hb 14,6 g%, erythrocyt. 4.040.000. Bij controle, zeven maanden later, was het Hb 13,9 g%, erythrocyt. 3.800.000. Zij kreeg toen 1 x per veertien dagen een injectie van 15  $\gamma$  vitamine B12.

T.S., een man van 58 jaar, klaagde sinds twee jaar over diarrhoe. Hij was vermaerd en anaemisch. De tong had een normaal aspect. De milt was niet palpabel. Er was wat oedeem aan beide benen. Een neurologisch onderzoek toonde polyneuritis aan. Röntgenonderzoek van de darm leverde geen bijzonderheden op. Het maagsap bevatte vrij zoutzuur (maximaal 25/35). De glucosecurve was vlak. Bilirubine 1,5 E. Beenmerg: sterke hyperplasie van de rode reeks met megaloblastaire veranderingen. Faeces: totaal vet 56% van de droogrest, vetzuren 7%, zepen 72% en neutraal vet 21% van het totaal vet.

Bloedbeeld: Hb 8,5 g%, erythrocyt. 2.100.000, diam. 8,9  $\mu$ , leucoc. 4100, diff.: eosinoph. leucoc. 10, staafk. leucoc. 6, segmentk. 52, lymphoc. 32, reticuloc. 0,6%. Patiënt werd behandeld met 15  $\gamma$  vitamine B12 i.m. op 3 opeenvolgende dagen. Er trad geen reticulocytenreactie op, maar er was wel een verbetering in de algemene toestand. Op de 14de dag na het begin van de therapie was het Hb 11,8 g%, erythrocyt. 3.790.000. Bij controle, na acht maanden vetarm dieet zonder vitamine-supplement, was het Hb 11,8 g%, erythrocyt. 4.390.000.

A.R., oud 36 jaar, was op de afdeling voor Huidziekten (Prof. Dr. M. RUITER) opgenomen wegens een generaliseerd eczema seborrhoicum. Hij voelde zich sinds zes maanden moe. De eetlust was matig. Hij had dunne ontlasting, licht van kleur, 2 x per dag. Bij navraag vertelde hij, dat hij ook in zijn jeugd last van diarrhoe had gehad, daarna niet meer. De tong was atrophisch en licht rood, terwijl patiënt ook subjectief klachten aangaf over de tong. Het Röntgenbeeld van de dunne darm toonde een grof-vlokkige tekening. Glucosebelastingcurve: nuchter 93 mg%, na 30 min. 91 mg%, 60 min. 107 mg%, 90 min. 94 mg%, 120 min. 100 mg%, 150 min. 89 mg%. Faeces: totaal gewicht 1300 g., droogrest 20,25%, totaal vet 76,5% van de droogrest, vetzuren 52%, zepen 35% en neutraal vet 13% van het totaal vet. Bloed: Ca 7,9 mg%. Alk. phosphatase 13,8 E. Bloedbeeld: Hb 16 g%, erythrocyt. 4.750.000, leucoc. 5000, diff.: eosinoph. leucoc. 5, segmentk. 71, lymphoc. 21, monoc. 3.

De man werd behandeld met een vetarm dieet, lactas calcicus per os en 15  $\gamma$  vitamine B12 per injectie per dag. Hierop trad geen verbetering in. Dit bleek verklaarbaar, toen de uitslagen van de vitamine B12- en foliumzuurbepalingen bekend werden. Het vitamine B12-gehalte van het serum was hoog (1,9  $\gamma$ /ml.), de foliumzuurspiegel was daarentegen te laag (2,3 m  $\gamma$ /ml.). Daarom werd na een maand de vitamine B12-behandeling gestaakt. Hij kreeg daarna 30 mg. foliumzuur per dag per os. Op de 5de dag voelde hij zich beter. De eetlust nam toe, de consistentie van de faeces verbeterde. Drie weken na het begin van de foliumzuurtherapie werd de patiënt nog eens op een SCHMIDT's dieet gezet: faeces: totaal gewicht 960 g., droogrest 23%, totaal vet 53% van de droogrest, vetzuren 33%, zepen 44% en neutraal vet 23% van het totaal vet. Glucosebelastingcurve: nuchter 89 mg%, na 30 min. 141 mg%, 60 min. 122 mg%, 90 min. 72 mg%, 120 min. 96 mg%, 150 min. 71 mg%. Ook in de curve van het lichaamsgewicht komt het effect van foliumzuur tot uiting: 20/2 60 kg., 18/3 58,5 kg., 25/3 56,8 kg., 26/3 vitamine B12 begonnen, 14/4 54,5 kg., 22/4 53,8 kg., 26/4 vitamine B12 gestaakt, 27/4 foliumzuur begonnen, 29/4 55 kg., 6/5 56 kg., 13/5 57,5 kg., 20/5 56,8 kg.

J.B., geboren in 1900, werd in 1950 voor de achtste maal in de Interne kliniek opgenomen. De diagnose inheemse spruw was bij hem gesteld in 1937. Hij werd opgenomen met een acute exacerbatie van deze ziekte. In de nacht, voorafgaande aan de opname, had hij 10 x waterdunne ontlasting gehad. Hij had al 10 jaar last van een pijnlijke tong. Hij was uitgedroogd (bloedureum 1550 mg./l.).

Faeces: totaal vet 43% van de droogrest, neutraal vet 10% van het totaal vet. Toen de uitdroging bestreden was en het geheel wat rustiger, was het Hb 9,4 g%, erythrocyt. 3.300.000, diam. 7,6  $\mu$ , haematokriet 32,5%, leucoc. 6500, diff.: staafk.

leucoc. 18, segmentk. 53, lymphoc. 15, monoc. 4, wat anisocytose, poikilocytose en polychromasie, tamelijk veel HOWELL-JOLLY-lichaampjes, reticuloc. 2,1%. Beenmerg: levendige erythropoiese, geen megaloblasten.

Op 16/5 werd begonnen met ijzer per os. Het aantal reticulocyten was op 20/5 4,1%. Het Hb was op 12/6 9,8 g%, erythroc. 3.700.000, reticuloc. 2,6%, haematokriet 36%. Op 13, 14 en 15/6 werd 15 γ vitamine B12 i.m. toegediend. Dit werd herhaald op 20/6. Het Hb was toen 10,9 g%, erythroc. 3.800.000. Daarna werd begonnen met 15 mg. foliumzuur per dag. Het aantal erythrocyten was op 1/7 4.600.000, 8/7 4.900.000, Hb 13 g%. Tijdens de foliumzuurbehandeling voelde patiënt zich subjectief veel beter.

J.W., oud 63 jaar, werd opgenomen in 1950. Hij zou al jaren lang een "gevoelige" maag gehad hebben. Hij had sinds een jaar frequente, dunne ontlasting, die licht van kleur was. Verder was hij vermagerd. In Assen was door coll. MOOK de diagnose inheemse spruw gesteld.

In 1931 was hij in de Interne kliniek opgenomen voor observatie wegens klachten over diarrhoe. Tijdens zijn verblijf in de kliniek had hij geen dunne ontlasting. Er werd toen geen diagnose gesteld.

Bij het onderzoek werd een gladde tong gevonden, verder was de lever 1-2 vingers onder de ribbenboog palpabel.

In Assen was een ruw leverextract gegeven.

Glucosebelastingcurve: nuchter 79 mg%, na 30 min. 108 mg%, 60 min. 110 mg%, 90 min. 100 mg%, 120 min. 98 mg%, 150 min. 80 mg%. Vitamine A-belastingcurve: 2-3-6-4 I.E./10 ml. Faeces: totaal vet 82% van de droogrest, vetzuren 33%, zepen 41% en neutraal vet 26% van het totaal vet.

Maagzuurwaarden maximaal 26/28. Beenmerg: levendige erythropoiese, geen megaloblasten. Hb 11,5 g%, erythroc. 3.900.000, leucoc. 6800, diff.: g.b. Bilirubine 0,5 E. Serumijzer 90 γ%.

Patiënt werd behandeld met een vetarm, eiwitrijk dieet, een multi-vitaminepraeparaat en 20 mg. foliumzuur per dag per os. Noch haematologisch noch klinisch was verbetering te bespeuren, integendeel "hij voelde zich slapper worden", naar hij bij controle op de polikliniek vertelde. In April 1951 overleed hij thuis aan een maagbloeding.

A.D.-B., oud 65 jaar, had in 1945 "dysenterie" gehad.

In 1946 kreeg zij frequente, volumineuse, sponzige, wit-gele ontlasting. Deze lasten waren de laatste maanden voor de opname in 1952 verergerd. Zij was vermagerd (77 kg. tot 57 kg.). Zij voelde zich moe, klaagde over tongpijn en tintelingen in de armen en benen. Bij onderzoek werd bij deze bleke vrouw een gladde, rode tong gevonden. De neuroloog vond g.a.

Gefractioneerd maagonderzoek: 0/6, 0/4, 0/2, 0/4, na histaminetoediening 0/14, 0/10, 4/20. Faeces: totaal vet 47,2% van de droogrest, vetzuren 34% en zepen 66% van het totaal vet. Vitamine A-curve: 6-25-90-30 I.E./10 ml. Glucosecurve: nuchter 86 mg%, na 30 min. 100 mg%, 60 min. 106 mg%, 90 min. 102 mg%, 120 min. 103 mg%, 150 min. 116 mg%. De beenmergpunctie toonde aan, dat duidelijke megaloblastaire veranderingen bestonden. Bilirubine 1 E. Serumijzer 246 γ%. Hb 8 g%, erythroc. 1.900.000, diam. 7,9 μ, leucoc. 3500, diff.: staafk. leucoc. 1, segmentk. 77, lymphoc. 21, monoc. 1, anisocytose, poikilocytose, verder hypersegmentatie van de granulocyten, thromboc. 167.500.

Patiënte werd behandeld met 15 γ vitamine B12 i.m. per dag. Op de 7de dag had zij een reticulocytentop van 10,5%. Toch was na 25 dagen het beenmerg onveranderd, het was nog megaloblastair. Het Hb was toen 8,8 g%, erythroc. 2.300.000. Daarna werden gedurende 14 dagen 20 injecties van 3 mg. van een synthetisch praeparaat met de eigenschappen van de citrovorum factor toegediend. Er trad geen nieuwe stijging van het aantal reticuloc. op. Aan het einde van deze 14 dagen was het Hb 10,2 g%, erythroc. 2.700.000. Er waren toen geen megaloblasten in het beenmerg te vinden. Patiënte was subjectief sterk verbeterd, de eetlust was zeer goed en zij had geen tongklachten meer. Zij werd naar huis gestuurd met het advies 15 mg. foliumzuur per dag te gebruiken, verder 15 γ vitamine B12 per injectie per week.

Bij deze vrouw trad na vitamine B12 enige verbetering op, zoals te verwachten was op grond van de verlaagde vitamine B12-spiegel in het serum. Het foliumzuurgehalte van het bloed was laag, voordat met vitamine B12 begonnen werd. Ook na de toediening van vitamine B12 bleef dit te laag. Wij menen hier met een gecombineerde deficiëntie van vitamine B12 en foliumzuur te maken te hebben (zie tabel 9).

P.J., een vrouw van 38 jaar, wordt uitvoerig besproken in hoofdstuk VI. Aanvankelijk werd zij behandeld met 15 γ vitamine B12 per dag per injectie. Deze therapie gaf, althans subjectief, wel enige verbetering. De glucosebelastingcurve en het vetgehalte van de faeces veranderden niet.

Later, na haar ontslag uit de kliniek, is begonnen met foliumzuur. Zij krijgt 15 mg. per dag per os, verder een vitamine A-D-praeparaat en lactas calcicus. De algemene toestand is redelijk. Zij heeft weinig lasten. De glucosebelastingcurve is nog altijd vlak, terwijl de faeces bij microscopisch onderzoek te veel vet bevatten. Hb 12,8 g%, erythroc. 4.000.000, diam. 8,0 μ.

In de twee door ons behandelde gevallen van tropische spruw was het effect van de behandeling met vitamine B12 zeer bevredigend.

Bij inheemse spruw is de werking van vitamine B12 wisselend. Bij enkele van onze patiënten had vitamine B12 geen effect (A.R. en J.B.). Bij A.D.-B. en P.J. was misschien wel enige verbetering te bespeuren, terwijl bij T.D. en T.S. de reactie goed te noemen was.

Foliumzuur had bij J.B. en A.R. een goede invloed op de algemene toestand. Bij J.W. werd geen verbetering waargenomen, integendeel, de patiënt ging achteruit.

Bij de serie patiënten, die door ons is behandeld, zijn de resultaten bij de categorie inheemse spruw bepaald slechter dan bij de andere groepen zoals perniciëuse anaemie etc.

Het valt op, dat men vaak pas tot de diagnose komt, nadat de klachten reeds jaren bestaan hebben. Zo duurde het bij J.W. 19 jaar en bij A.D.-B. 7 jaar, voordat de correcte diagnose gesteld werd. Te veel wordt diarrhoe als een *conditio sine qua non* voor de diagnose beschouwd. Bij H.V., een patiënt beschreven in hoofdstuk V, die zeker een jaar lasten had, zagen wij pas in de laatste weken voor zijn dood diarrhoe. Bij deze man was de diarrhoe een terminaal verschijnsel.

Mogelijk kunnen de resultaten van de behandeling verbeterd worden, wanneer daarmee in een vroeg stadium begonnen wordt.

De moeilijkheden voor de diagnostiek in gevallen van spruw worden ook geïllustreerd door de geschiedenis van het begrip "achrestische anaemie". Dit ziektebeeld is door ISRAELS en WILKINSON <sup>71)</sup> beschreven in 1936. Bij dergelijke patiënten werd megaloblastaire anaemie gevonden, terwijl vrij zoutzuur in het maagsap aanwezig was. Behandeling met leverextract was niet effectief, zodat verschillende lijdens aan deze ziekte overleden. Praeparaten, gemaakt uit de levers van geobduceerde patiënten, die dit beeld vertoonden, bleken een genezende werking te hebben bij perniciëuse anaemie. Destijds werd daarom de theorie naar voren gebracht, dat de achrestische anaemie zou berusten op een gebrekkige utilisatie van de p.a.factor, die wel in de lever opgeslagen werd. ISRAELS deelde mee <sup>72)</sup>, dat verschillende gevallen van wat destijds achrestische anaemie genoemd werd, uitstekend gereageerd hadden op behandeling met foliumzuur. Bovendien leverde het chemisch onderzoek van de faeces aanwijzingen op voor het bestaan van spruw. Het is dus wel waarschijnlijk, dat men de achrestische anaemie kan schrappen als aparte categorie onder de megaloblastaire anaemieën. Deze gevallen horen thuis bij die vorm van spruw met megaloblastaire anaemie, die refractair is tegen behandeling met vitamine B12, maar wel reageert op foliumzuur.

## Megaloblastaire anaemie door anastomosen en stricturen in het maagdarmkanaal

Een op spruw gelijkend beeld werd door ons waargenomen bij een patiënt met een maag-colonfistel.

N.R.B., man, oud 50 jaar, had maagklachten sinds 1925. In 1937 werd hij geopereerd: er werd een gastro-enterostomie aangelegd. In 1943 kreeg hij een perforatie, waarvoor overhechting werd toegepast. Daarna had hij aanvankelijk weinig last van de maag. Twee jaar later echter kreeg hij de volgende klachten: frequente, volumineuse, dunne ontlasting, die licht van kleur was, een opgezette buik en tongpijn. Het laatste halfjaar kreeg hij weer maagpijn en zuurbranden. De anamnese vermeldde verder, dat vaak een erg vieze lucht uit de maag naar boven kwam. Hij was sterk vermagerd. De slijmvliezen waren matig geïnjecteerd. De tong was iets glad in het centrum. De milt werd niet gevoeld. De lever was even palpabel. Laboratoriumgegevens: maagzuurwaarden maximaal 72/90. Faeces na SCHMIDT's dieet: totaal vet 69% van de droogrest, vetzuren 28,5%, zepen 52% en neutraalvet 19,5% van het totaal vet. Vitamine A-curve: 2 I.E.-4 I.E.-3 I.E.-5 I.E./10 ml. Glucosebelastingscurve: nuchter 100 mg%, na 30 min. 156 mg%, 60 min. 183 mg%, 90 min. 157 mg%, 120 min. 115 mg%, 150 min. 80 mg%. Eiwitspectrum: totaal 6,78%, albumine 4,13%, globuline 2,65%. Galactoseproef: 0,36 g. in 4 en 24 uur. Broomsulfaleïneproef (5 mg./kg.): minder dan 5%. Thymol 1,8 E. Alk.phosphatase 25,3 E. Bilirubine 0,35 E. Vitamine C 4 mg./l. Serumijzer 116  $\gamma$ %. Calcium 8,32 mg%. Beenmergpunctaat: hyperplasie van de rode reeks met enkele megaloblasten. Hb 12 g%, erythroc. 2.300.000, diam. erythroc. 7,9  $\mu$ , leucoc. 5600, diff.: eos.leucoc. 1, staaff. leucoc. 4, segmentk. 58. Lymphoc. 33, monoc. 4, anisocytose en poikilocytose, thromboc. 390.000, reticuloc. 0,6-1,0%.

Behandeling en beloop: Patiënt werd voor zijn megaloblastaire anaemie behandeld met 15  $\gamma$  vitamine B12 i.m. per dag. Het aantal reticuloc. steeg tot 3,7% op de 9de dag. Op de 7de dag was het Hb 12,8 g%, het aantal erythroc. 2.600.000, op de 14de dag 12,8 g% en 2.900.000. Op de maagfoto's werden de eerste keer geen duidelijke afwijkingen gezien. Omdat patiënt pijnklachten hield en er retentie bestond, werd hij nog eens Röntgenologisch nagekeken. Er werd toen een ulcus pylori met stenosering gevonden. De eerder gemaakte anastomose werd niet gezien.

Er werd gedacht aan een combinatie van spruw en ulcus. Wegens de stenose werd operatie nodig geoordeeld. Bij de laparotomie (Prof.Dr. L.D. EERLAND) werd een callus ulcus duodeni gevonden, dat in het pancreas gepenetreerd was. Er bleek bij de vroeger aangelegde anastomose een ulcus pepticum jejuni met een gastro-jejuno-colonfistel te bestaan. De continuïteit van het jejunum werd hersteld. Het stuk colon transversum, waarin de fistel zat, werd geresecteerd. De opening in het mesocolon werd gesloten. Daarna vond maagresectie plaats volgens POLYA-REICHEL. Een gastrojejunostomia antecolica en een anastomose volgens BRAUN werden aangelegd.

Het postoperatieve beloop was ongestoord. Voor het eerst in jaren had patiënt ontlasting van normale kleur en consistensie.

Twee maanden na de operatie kwam hij voor contrôle. De algemene toestand was goed. Hij was alleen nog wat gauw moe. Hb 12 g%, erythroc. 3.500.000.

Dat wij bij deze patiënt met een vitamine B12-deficientie te maken hadden, is ook bevestigd door een bepaling van het vitamine B12-gehalte van het serum. De uitslag was 0,129 m $\gamma$ /ml. (normaal 0,3-1,0 m $\gamma$ /ml.). De foliumzuuractiviteit was 10,3 m $\gamma$ /ml. (normaal hoger dan 2,9 m $\gamma$ /ml.). Anatomische afwijkingen aan het maagdarmkanaal als oorzaak van vitamine B12-gebrek zijn vrij zeldzaam. Het eerste geval werd door FABER<sup>73)</sup> in 1897 beschreven. CAMERON c.s.<sup>74)</sup> verzamelden in 1949 61 gevallen uit de wereldliteratuur, waarbij door darmstricturen of anastomosen megaloblastaire anaemie was ontstaan. In ons land werd onlangs een patiënt bestudeerd door VERLOOP en FLORIJN<sup>75)</sup>. Zij toonden het voorkomen van intrinsic factor in het maagsap van hun patiënt aan.



## Megaloblastaire anaemie en leverafwijkingen

Destijds werd door WILKINSON 76) en ROHR 77) als een mogelijke oorzaak van megaloblastaire anaemie naar voren gebracht een stoornis in de stapeling van de p.a.factor in de lever.

Het is zeer de vraag, of we hier inderdaad de destructie van leverweefsel als oorzaak van megaloblastaire anaemie mogen zien. Er is op gewezen, dat men ook bij zeer uitgebreide vernietiging van leverweefsel slechts zelden megaloblastaire anaemie ziet. BERMAN c.s. 78) zagen in een goed uitgewerkte studie over het bloedbeeld en het beenmerg bij 25 lijders aan levercirrhose geen enkel geval van megaloblastaire anaemie.

In de Interne kliniek hebben wij in enige gevallen een samengaan van leverafwijkingen en megaloblastaire anaemie waargenomen. Deze gevallen zullen daarom nog eens aan een nadere analyse onderworpen worden.

T.M.-P. werd reeds besproken bij de categorie megaloblastaire voedingsanaemieën. Toen zij werd opgenomen, was de HANGER-test gestoord. Nadat zij enige maanden een normaal dieet gebruikt had, was de HANGER-test normaal. De lichte leverfunctiestoornis bij deze patiënte kan, evenals de megaloblastaire anaemie, misschien gezien worden als een gevolg van het inadequate dieet.

Het lijkt niet aannemelijk, dat een gestoorde stapeling van de p.a.factor bij deze leveraandoening de oorzaak is van de anaemie.

H.V., die in hoofdstuk V nader beschreven wordt, vertoonde het klinische beeld van de inheemse spruw. Hij leed aan megaloblastaire anaemie, die refractair bleek tegen vitamine B12, maar reageerde op foliumzuur. Bij obductie werd een sterke ophoping van vet in de lever gevonden met beginnende bindweefselvorming, waarschijnlijk veroorzaakt door gebrek aan een essentieel nutriënt als choline ten gevolge van de resorptiestoornis. Bij deze man was de vitamine B12-spiegel normaal, zodat een stoornis van de vitamine B12-stapeling niet aannemelijk lijkt.

Het tekort aan foliumzuur in de bloedvormende weefsels kan theoretisch een gevolg zijn van de vetlever, maar men dient toch zeker aan de mogelijkheid te denken, dat de megaloblastaire anaemie en de levercirrhose in dit geval een gevolg zijn van multiple deficientie.

T.S., oud 60 jaar, werd in 1951 opgenomen. Hij werd sinds 1942 met tussenpozen behandeld met lever wegens bloedarmoede en tongpijn. De laatste tijd was hij moe en had hij tintelingen in de armen en benen.

De sclerae waren licht-geel. De lever was 4 vingers, de milt 3 vingers onder de ribbenboog voelbaar. Er bestond een lichte polyneuritis. Urine: urobiline +++. Gefractioneerd maagonderzoek: histamine-refractaire achylie. Beenmerg: sterke megaloblastaire veranderingen. Hb 5,6 g%, erythroc. 1.700.000. Bilirubine: dir.-, quant. 4,3 E. Alk. phosphatase 8,2 E. Thymol 7,6 E. Serumijzer 452 γ%. WaR -.

Patiënt werd behandeld met vitamine B12, waarop een reticulocytencrisis van 21,8% op de 6de dag volgde. Hij werd ontslagen uit de kliniek met het advies aan de huisarts 1 x per week 15 Y vitamine B12 in te spuiten.

Bij controle na 3 maanden was de lever nog steeds 4 vingers palpabel, de milt 3 vingers. Hb 12,4 g%, erythroc. 4.800.000. Bilirubine 1,05 E. Thymol 9,2 E. Alk. phosphatase 16 E.

Op grond van het voortduren van de hepatosplenomegalie met de gestoorde leverfunctietests werd gedacht aan de mogelijkheid van een leveraandoening naast het beeld van de klassieke pernicieuse anaemie.

Patiënt werd na 9 maanden opgenomen voor leverbiopsie. De patholoog-anatoom zag in het leverpunctaat een vrij sterke graad van steatosis hepatis. Hier en daar waren er opvallend grote vetvacuolen (T 69932).

De algemene toestand van de patiënt was goed. De lever was nog 2 vingers en de milt 1 vinger onder de ribbenboog te voelen. Hb 15,2 g%, erythroc. 4.800.000. Bilirubine 0,7 E. Thymol 5,2 E. Broomsulfaleïneproef (5 mg./kg.) 4%. Urine: urobiline +.

De dieetanamnese leverde bij patiënt de volgende gegevens: hij gebruikte groenten uit eigen tuin. Bij de broodmaaltijden gebruikte hij naast jam altijd kaas. Het gezin, dat bestaat uit 3 personen, kreeg per dag 2 l. melk. Verschillende keren per week werd karnemelkse pap gegeten. Vis werd slechts weinig geconsumeerd. Bij de warme maaltijd werd op Zondagen vlees en op werkdagen vet spek gebruikt. Dit dieet is niet optimaal, maar voldoet aan redelijke eisen.

Bij deze man werden de volgende kenmerken van de anaemia perniciosa gevonden: megaloblastaire anaemie, reagerend op vitamine B12, glossitis, polyneuritis en histamine-refractaire achylie. De eerste klachten dateren van 1942. In 1951 werd bij hem hepatosplenomegalie met lichte leverfunctiestoornissen gevonden. Een jaar later werden bij de leverbiopsie nog duidelijke afwijkingen aangetroffen, hoewel lever en milt kleiner geworden waren en de leverfunctiestoornissen verbeterd.

O.i. kan de leverafwijking moeilijk gezien worden als oorzaak van het vitamine B12-gebrek in de weefsels. Reeds negen jaar tevoren hadden zich verschijnselen gemanifesteerd, die wezen op pernicieuse anaemie.

Bij deze drie patiënten, waarbij leverafwijkingen tezamen met megaloblastaire anaemie voorkwamen, lijkt het ons gewrongen aan te nemen, dat de leverafwijking door gestoorde stapeling de oorzaak was van de megaloblastaire anaemie.

In de eerste twee gevallen lijkt het ons niet onmogelijk, dat een multiple deficiëntie de oorzaak is zowel van de anaemie als van de leveraandoening.

Bij de derde patiënt is geen duidelijke deficiëntie aan te wijzen naast het vitamine B12-gebrek. De vitamine B12-therapie heeft de anaemie tot verdwijnen gebracht, maar ook de leveraandoening is verbeterd in de loop van het jaar, waarin deze man adaequaat met vitamine B12 is behandeld.

Bij de onbehandelde lijder aan pernicieuse anaemie vindt de patholoog-anatoom bij de obductie vette degeneratie van de lever. Vaak werd aangenomen zonder verder bewijs, dat anoxie door de anaemie hiervan de oorzaak was. Toch moet het niet onmogelijk geacht worden, dat de deficiëntie rechtstreeks de levercel beschadigt. CARTWRIGHT e.a. <sup>79)</sup> vonden bij varkens met een vitamine B12-tekort vetophoping en soms necrose in de lever, zonder dat een ernstige graad van anaemie bestond.

Andere dierproeven hebben ons duidelijk gemaakt, dat de toevoer van vitamine B12 en foliumzuur in het dieet invloed

heeft op de behoefte van het organisme aan de lipotrope stoffen choline en methionine <sup>80-86</sup>).

Bovendien vonden KOCH-WESER c.s. 87), dat vitamine B12 een beschermende invloed heeft op de lever bij ratten, die behandeld zijn met CC14.

Op grond van de langzame verbetering na toediening van vitamine B12 mag men bij T.S. denken aan de mogelijkheid, dat vitamine B12-gebrek een factor van causale betekenis was voor het ontstaan van de leveraandoening.

Bovenstaande beschouwingen zijn niet in overeenstemming met de opvatting, dat in gevallen van coëxistentie van leverafwijkingen en megaloblastaire anaemie het gebrek aan bloedvormende factoren in het beenmerg een gevolg is van een gestoorde stapeling door destructie van leverweefsel. Bovendien moet men bedenken, dat naast de lever de nieren veel vitamine B12 bevatten en dus vermoedelijk ook van betekenis zijn voor de stapeling van dit vitamine 88, 89).

In gevallen, waarin leverafwijkingen gepaard gaan met megaloblastaire anaemie, moet men o.i. in de eerste plaats denken aan een (multiple) deficientie als oorzaak van beide afwijkingen (zie ook DAVIDSON en DAVIS <sup>65</sup>)). Er is onvoldoende bewijs voor de theorie, dat gestoorde stapeling de oorzaak kan zijn van megaloblastaire anaemie, integendeel, moderne experimentele onderzoeken pleiten ervoor, dat de deficientie, die leidt tot megaloblastaire anaemie, kan praedisponeren voor leverbeschadiging.

Daarom is het beter de categorie megaloblastaire anaemie met leverafwijkingen niet als aparte groep te beschouwen, zoals door WILKINSON en ROHR is gedaan.

## LITERATUUR

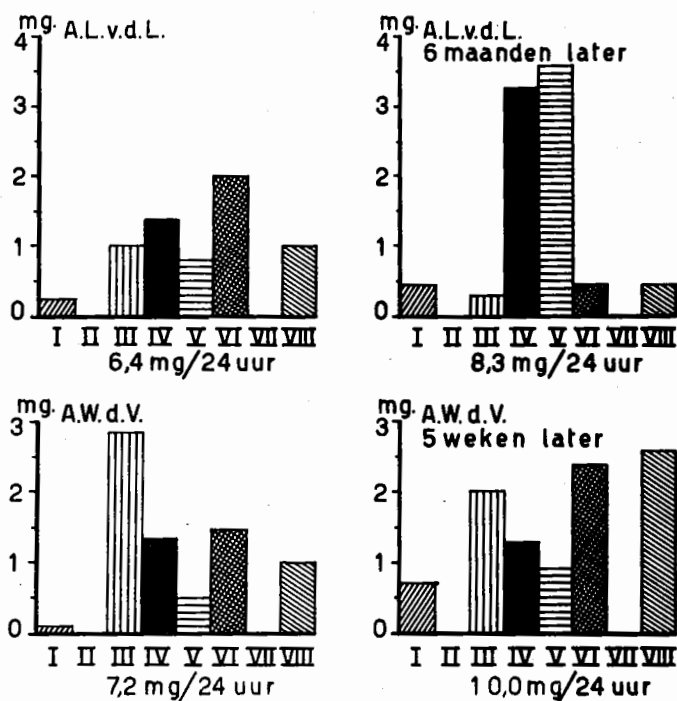
1. W.B. Castle:  
Am. J. Med. Sci. 170-764-1929.
2. K. Singer, J.C. King en S. Robin:  
J. Lab. Clin. Med. 33-1068-1948.
3. M.M. Wintrobe:  
Clinical Hematology, 3rd Ed. Philadelphia, 1951.
4. S.I. de Vries:  
Leerboek der Bloedziekten, dl. II., Amsterdam, 1947.
5. A.A. Hijmans van den Bergh en M.C. Verloop in:  
Aanwinsten op Diagnostisch en Therapeutisch gebied. Amsterdam, 1950.
6. L. Berk, W.B. Castle, A.D. Welch, R.W. Heinle, R. Anker en M. Epstein:  
New. Engl. J. Med. 239-911-1948.
7. B.E. Hall en D.C. Campbell:  
Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 23-584-1948.
8. D.C. Campbell, B.E. Hall en E.H. Morgan:  
Med. Clin. N. Amer. 34-1197-1950.

9. C.C. Ungley:  
Brit. Med. J. 11-1370-1949.
10. C.C. Ungley:  
Proc. Roy. Soc. Med. 43-537-1950.
11. C.C. Ungley:  
Brit. J. Nut. 4-252-1950.
12. D.L. Mollin en J.V. Dacie:  
Proc. Roy. Soc. Med. 43-541-1950.
13. E. Jones, W.J. Darby en J.R. Totter:  
Blood, J. Hematol. 4-827-1949.
14. F.H. Bethell, M.C. Meyers en R.B. Neligh:  
J. Lab. Clin. Med. 33-1477-1948.
15. T.D. Spies, R.E. Stone en T. Aramburu:  
South. Med. J. 41-522-1948.
16. W.J. Bruins Slot:  
Geneesk. Gids 30-365-1952.
17. D.M. Dunlop en W.M. Wilson:  
Lancet 1-754-1949.
18. T. Kinnear en R.B. Hunter:  
Edinb. Med. J. 57-65-1950.
19. L.A. Erf en B. Wimer:  
Blood, J. Hematol. 4-845-1949.
20. J. Lederer en A. Prinzie:  
Le Sang 22-489-1951.
21. P. Petrides en S. Niedermeier:  
Deutsch. Med. Wochenschr. 75-426-1950.
22. R. West:  
Science 107-398-1948.
23. L. Berk, D. Denny Brown, M. Finland en W.B. Castle:  
New. Engl. J. Med. 239-328-1948.
24. C.C. Ungley:  
Brain 72-382-1949.
25. B.E. Hall en D.C. Campbell:  
Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 23-591-1948.
26. B.E. Hall, F.H. Krusen en H.W. Woltman:  
J. Am. Med. Assoc. 141-257-1949.
27. J.N.M. Chalmers:  
Brit. Med. J. 1-161-1951.
28. C.C. Ungley:  
Brit. Med. J. 1-152-1951.
29. R.F. Schilling, J.W. Harris en W.B. Castle:  
Blood, J. Hematol. 6-228-1951.
30. T.D. Spies, R.E. Stone, M.B. Koch, H.M. Grant en M.M. Moore:  
South. Med. J. 43-50-1950.
31. P.A. Owren:  
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2-241-1950.
32. P.A. Owren:  
Voordracht, Congres Int. Soc. Clin. Pathology.  
London, 1951.

33. C.C. Ungley:  
Nutr. Abstr. Rev. 21-1-1951.
34. C.L. Conley, T.W. Green, R.C. Hartmen en J.R. Krevans:  
Am. J. Med. 13-284-1952.
35. B. Jacobson en R.C. Bishop:  
J. Clin. Invest. 28-791-1949.
36. B. Norén:  
Acta Med. Scand. 137-48-1950.
37. S.K. de Boer:  
Persoonlijke mededeling.
38. W.C. Young, C.W. Ulrich en P.J. Fouts:  
J. Am. Med. Ass. 143-893-1950.
39. T.D. Spies en B.E. Stone:  
Lancet 1-174-1947.
40. L.M. Meyer:  
Blood, J. Hematol. 2-50-1947.
41. B.E. Hall en C.H. Watkins:  
J. Lab. Clin. Med. 32-622-1947.
42. R.W. Heinle en A.D. Welch:  
J. Am. Med. Ass. 133-739-1947.
43. R.W. Heinle, J.T. Dingle en A.S. Weisberger:  
J. Lab. Clin. Med. 32-970-1947.
44. D.L. Mollin:  
Lancet 2-928-1948.
45. S.O. Schwartz, S.R. Kaplan en B.E. Armstrong:  
J. Lab. Clin. Med. 35-894-1950.
46. R.W. Vilter, D. Horrigan, J.F. Mueller, T. Jarrold,  
C.F. Vilter, V. Hawkins en A. Seaman:  
Blood, J. Hematol. 5-695-1950.
47. J.F. Ross, H. Belding en B.L. Paegel:  
Blood, J. Hematol. 3-68-1948.
48. J.F. Schieve en R.W. Rundles:  
J. Lab. Clin. Med. 34-439-1949.
49. J.F. Wilkinson:  
Mededelingen Congres Int. Soc. Hematology. Cambridge,  
1950.
50. W. Walker en R.B. Hunter:  
Brit. Med. J. 2-593-1952.
51. R.D. Barnard en H.A. Weitzmann:  
Lancet 2-717-1949.
52. E. Lyngar:  
Acta Med. Scand. Suppl. 247-1950.
53. N. Hellemans:  
Proefschrift. Groningen, 1951.
54. J.F. Wilkinson:  
Quart. J. Med. 2-281-1933.
55. R.N. Washburn en H.M. Rozendaal:  
Ann. Int. Med. 11-2172-1938.
56. J.R. Kahn:  
Am. J. Med. Sci. 194-463-1937.

57. L. Wills:  
Blood, J. Hematol. 3-36-1948.
58. E. Brouwer:  
Proefschrift. Groningen, 1922.
59. J. Groen:  
Proefschrift. Amsterdam, 1935.
60. J. Groen en I. Snapper:  
Am. J. Med. Sci. 193-633-1937.
61. R.M. van Deth:  
N.T.v.G. 94-452-1950.
62. P.B. van Steenis:  
N.T.v.G. 92-2606-1948.
63. P.B. van Steenis:  
N.T.v.G. 92-3990-1948.
64. L.D. Abbot:  
Fed. Proc. 10-153-1951.
65. L.S.P. Davidson en L.J. Davis in:  
Advances in Internal Medicine II. New York, 1947.
66. L.A. Day, B.E. Hall en G.L. Pease:  
Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 24-149-1949.9.
67. A.J.J.G. Nuyens:  
Proefschrift. Utrecht, 1951.
68. R.B. Thompson en C.C. Ungley:  
Quart. J. Med. 20-187-1951.
69. J.H. van de Kamer:  
Proefschrift. Utrecht, 1948.
70. P.B. van Steenis in:  
W. Kouwenaar, P.B. van Steenis en Ch.W.F. Winckel:  
Leerboek der Tropische Geneeskunde. Amsterdam, 1951.
71. M.C.G. Israels en J.F. Wilkinson:  
Quart. J. Med. 9-69-1936.
72. M.C.G. Israels en J. Sharp:  
Lancet 1-752-1950.
73. K. Faber:  
Berl. Klin. Wochenschr. 34-643-1897.
74. D.G. Cameron, G.M. Watson en L.J. Witts:  
Blood, J. Hematol. 4-793-1949.
75. M.C. Verloop en E. Florijn:  
N.T.v.G. 95-454-1951.
76. J.F. Wilkinson:  
Lancet 1-249, 292, 336-1949.
77. K. Rohr:  
Das Menschliche Knochenmark. Stuttgart, 1949.
78. L. Berman, A.R. Axelrod, T.N. Horan, S.D. Jacobson,  
E.A. Sharp en E.C. Vonderheide:  
Blood, J. Hematol. 4-511-1949.
79. G.E. Cartwright, B. Tattling, J. Robinson, N.M. Fellows,  
F.D. Gunn en M.M. Wintrobe:  
Blood, J. Hematol. 6-867-1951.
80. M.M. Burns en J.M. McKibbin:  
J. Nutr. 44-487-1951.

81. A.E. Schaeffer en J.L. Knowles:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77-655-1951.
82. O.M. Hale en A.E. Schaeffer:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77-633-1951.
83. J.N. Williams:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78-206-1951.
84. M.S. Fisher en G.D. Hall:  
Fed. Proc. 11-24-1952.
85. A.E. Schaeffer, J.L. Knowles en W.D. Salmon:  
Fed. Proc. 16-393-1951.
86. J.J. Travers en L.B. Cerecedo:  
Fed. Proc. 10-396-1951.
87. D. Koch-Weser, P.B. Szanto, E. Farber en H. Popper:  
J. Lab. Clin. Med. 36-694-1950.
88. H. Yacowitz, C.H. Hill, L.C. Norris en F.G. Heuser:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 79-279-1952.
89. B.S. Schweigert, H.E. Scheid en M.M. Marquette:  
Fed. Proc. 10-394-1951.



Figuur 5

## HOOFDSTUK II

### Megaloblastaire anaemie als manifestatie van twee deficienties

Tot voor kort was de gangbare mening, dat megaloblastaire anaemie een manifestatie was van tekort aan één factor, de p.a. factor <sup>1)</sup>. Deze deficientie zou dan op verschillende wijzen kunnen ontstaan (zie tabel 5).

Deze "unitarische" opvatting is niet meer houdbaar, sinds de klinicus de beschikking heeft gekregen over foliumzuur en vitamine B12. De eerste aanval kwam echter al in de dertiger jaren van de kant van LUCY WILLS op grond van haar waarnemingen over de werking van ruwe en gezuiverde leverextracten bij de megaloblastaire anaemie in de tropen <sup>2)</sup>.

Als men systematisch de patiënten met vitamine B12 behandelt en, indien dit niet effectief is, overgaat op foliumzuur, valt op, dat de megaloblastaire anaemie te classificeren is in twee groepen.

Nemen we als voorbeeld patiënt S.G. met perniciëuse anaemie, die goed reageert op vitamine B12. Hij was tot de dag van opneming behandeld met 10 mg. foliumzuur per dag. Desondanks was zijn beenmerg megaloblastair, er bestond glossitis en polyneuritis: hij vertoonde dus geheel en al het beeld, zoals wij dat kennen bij de onbehandelde perniciëuse anaemie.

Het is algemeen bekend, dat foliumzuur bij de lijder aan perniciëuse anaemie aanvankelijk verbetering geeft van het bloedbeeld (zie BRUINS SLOT <sup>3)</sup>). Als belangrijkste bezwaar tegen deze therapie geldt, dat reeds aanwezige neurologische afwijkingen niet in gunstige zin beïnvloed worden <sup>4, 5)</sup>. Deze kunnen ook ontstaan tijdens de behandeling, soms zo snel, dat sommige auteurs dachten aan een toxische werking van foliumzuur op het zenuwstelsel <sup>6)</sup>.

Op den duur echter verliest foliumzuur ook zijn haemato-poietische werking bij de perniciëuse anaemie <sup>7, 8, 9)</sup>. Vitamine B12 daarentegen geeft bij de onbehandelde lijders aan perniciëuse anaemie een dramatische verbetering van de algemene toestand, het bloedbeeld wordt normaal en tongklachten verdwijnen meestal binnen een week. Ook de neurologische laesies worden subjectief en vaak ook objectief in gunstige zin beïnvloed. De resultaten op langere termijn van de vitamine B12-therapie zijn eveneens goed. Deze werking van vitamine B12 op alle klinische manifestaties van de ziekte maakt het wel waarschijnlijk, dat we bij de perniciëuse anaemie en andere op vitamine B12 reagerende gevallen van megaloblastaire



blastaire anaemie te maken hebben met een vitamine B12-gebrek.

Stellen we hier tegenover een patiënte met een megaloblastaire graviditeitsanaemie als A.W.-d.V., dan zien we, dat bij haar zelfs na 3 x 45 γ intramusculair toegediend vitamine B12 geen verandering te zien was. Foliumzuur daarentegen gaf hier een snelle verbetering. Bij patiënten van deze groep vindt men geen neurologische afwijkingen. Op grond van de klinische reactie lijkt het wel aanvaardbaar, dat we bij deze groep te maken hebben met een foliumzuur-deficientie.

Een verdeling van de megaloblastaire anaemieën in twee groepen is in overeenstemming met het standpunt van CARTWRIGHT en WINTROBE 10).

Onze indeling (zie tabel 6) wijkt echter op enige punten af van die, gegeven in het boek van WINTROBE (1951). De megaloblastaire graviditeitsanaemie reageert volgens buitenlandse auteurs (o.a. DAY e.a., BETHELL e.a. in de V.S., UNGLEY in Engeland en HAENEL in Duitsland) niet op vitamine B12 11-18). Voor Nederland gaat dit niet op. VERLOOP heeft in de Utrechtse kliniek in vier gevallen gezien, dat vitamine B12 een verbetering gaf, evenals dit bij een drietal patiënten in onze kliniek is waargenomen.

In de tropen is eveneens een goede werking van vitamine B12 bij de megaloblastaire zwangerschapsanaemie beschreven (DAS GUPTA 20), VAN DER SAR 21)).

Waarschijnlijk is de megaloblastaire voedingsanaemie 22, 23, 24) in de tropen soms een gevolg van een foliumzuur-gebrek (WILLS' factor), soms van een vitamine B12-gebrek, afhankelijk van de voeding ter plaatse.

VAN STEENIS 25, 26) beschreef megaloblastaire voedingsanaemie, die berustte op foliumzuur-tekort. VAN DETH 27) nam waar, dat bij een vegetarier, behandeld met foliumzuur wegens megaloblastaire anaemie, gecombineerde strengaandoening ontstond, die na vitamine B12-toediening verbeterde. Wij zagen vitamine B12-gebrek bij twee vrouwen, bij wie als therapie een eiwitarm dieet geadviseerd was.

Bij darmanastomosen of stricturen kunnen neurologische afwijkingen optreden (WINTROBE). Hiermee in overeenstemming is de waarneming van VERLOOP en FLORIJS 28), die een goede reactie op pernaemon forte zagen. Of bij patiënten van deze groep een foliumzuurtekort kan optreden, is nog niet met zekerheid te zeggen.

De Diphyllobotrium latum-anaemie is vooral bestudeerd door Finse onderzoekers. BJÖRKENHEIM 29) beschreef neurologische afwijkingen bij deze aandoening, die alleen optreedt, wanneer de worm zich bevindt in de eerste 120 cm. van de dunne darm. VON BONSDORFF 30) heeft aangetoond, dat de parasiet grote hoeveelheden vitamine B12 consumeert en hierdoor een deficientie kan veroorzaken (zie ook UNGLEY 31)).

De indeling van de megaloblastaire anaemieën in twee groe-

TABEL 4

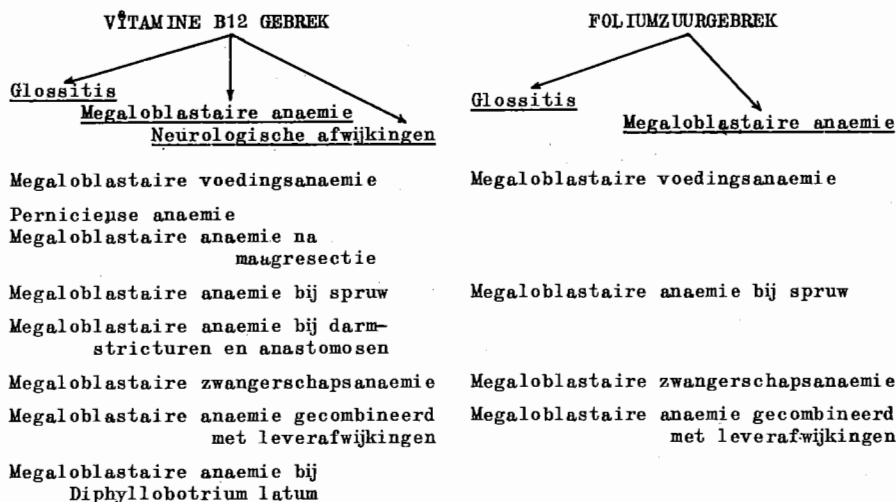
		17-keto- steroiden	gonadotrophinen F.S.H. L.H.	oestrogene stoffen
A.L.-v.d.L.	8ste maand	6,4 mg.	150.000 80.000 E.	15.000 E.
	6 maanden later	9,7 mg.	15 E.	± 150 E.
K.d.J.-G.	8ste maand	9,2 mg.	± 7500 E.	
A.W.-d.V.	7de maand	7,2 mg.		13.000-19.500 E.
	5 weken later	10,0 mg.		15.000-20.000 E.
G.B.-W.	8ste maand	15,6 mg.		18.000 E.

Hormoonbepalingen in de urine bij 4 vrouwen met megaloblastaire  
zwangerschapsanaemie

Tabel 5

TE GERINGE TOEVOER VAN DE EXTRINSIC FACTOR:	Megaloblastaire voedingsanaemie.
TE GERINGE PRODUCTIE VAN INTRINSIC FACTOR:	Pernicieuse anaemie. Megaloblastaire anaemie na maag- resectie.
GESTOORDE INWERKING VAN DE INTRINSIC FACTOR OP DE EXTRINSIC FACTOR:	Megaloblastaire anaemie bij Diphyllobotrium latum.
GESTOORDE RESORPTIE VAN DE P.A.FACTOR:	Megaloblastaire anaemie bij spruw. Megaloblastaire anaemie bij darm- stricturen en anastomosen.
GESTOORDE STAPELING VAN DE P.A.FACTOR:	Megaloblastaire anaemie bij leverziekten.
STORING IN DE UTILISATIE VAN DE P.A.FACTOR:	Achrestische anaemie.

TABEL 6



TABEL 7

Vitamine B<sub>12</sub> activiteit (mγper mL)  
van serum voor de Lactobacillus Leichmannii  
bij normale personen

	<u>vrij</u>	<u>totaal</u>
1.	0,103	0,31
2.		0,33
3.		0,34
4.	0,025	0,35
5.	0,125	0,35
6.	0,025	0,40
7.	0,090	0,40
8.		0,41
9.		0,435
10.		0,44
11.		0,45
12.	0,025	0,46
13.		0,47
14.		0,50
15.		0,50
16.		0,52
17.		0,56
18.		0,80
19.		0,63
20.		0,67
21.		0,74
22.		0,76
23.		0,78
24.		0,795
25.		1,05

pen, die door vitamine B12- en die door foliumzuurgebrek, berustte dus op de klinische reactie op systematische behandeling: eerst met vitamine B12 en indien nodig met foliumzuur. Daar deze onderscheiding van theoretisch en praktisch belang is, zijn hierover nadere onderzoekingen verricht, waarbij de microbioloog door de klinicus te hulp is geroepen. Men heeft door vitamine B12- en foliumzuurbepalingen in de lichaamsvochten of in door autopsie of biopsie verkregen weefsel getracht een indruk te krijgen van de in het lichaam aanwezige hoeveelheden van deze factoren.

Bij perniciëuse anaemie bepaalde WOLFF c.s. <sup>32)</sup> het vitamine B12-gehalte van door punctie verkregen stukjes leverweefsel met de Lactobacillus leichmannii-techniek. Dit bleek te variëren van 0,02 tot 0,14  $\gamma$  per g. weefsel (normaal 0,47 - 1,14  $\gamma$ ).

MOLLIN en ROSS <sup>33, 34)</sup> onderzochten de uitscheiding van vitamine B12 in de urine met de Euglena gracilis. Normale personen scheidden 0,1 tot 0,3  $\gamma$  per dag uit. Bij de onbehandelde perniciëuse anaemie lagen de uitkomsten beneden de 0,02  $\gamma$  bij tien bepalingen en tussen 0,02 en 0,08  $\gamma$  bij zeven bepalingen.

Met dezelfde zeer gevoelige methode vonden zij ook in serum abnormaal lage waarden bij de onbehandelde perniciëuse anaemie. Bij twee patiënten met een foliumzuurgebrek bleek hun de vitamine B12-spiegel normaal.

Bij een aantal van onze patiënten is de vitamine B12-activiteit van serum voor een gevoelige stam van de Lactobacillus leichmannii bepaald.

#### Methodiek:

Het basale medium, dat wij gebruikten, wat dat volgens SKEGGS en WRIGHT <sup>35)</sup> met dit verschil, dat wij 50 mg. thioappelzuur in plaats van 100 mg. thioappelzuur per 100 ml. gebruikten. Als organisme werd genomen Lactobacillus leichmannii A.T.C.C. 7830, St. 313. Deze cultuur werd aangehouden als steekcultuur op een agar van de volgende samenstelling:

- 2,5 g.  $\text{CaCO}_3$ .
- 2,5 g. glucose - aminozuur - vitaminemengsel \*).
- 2 g. gistextract (N.G. en S.F.).
- 150  $\gamma$  vitamine B12..
- 2,5 ml. leverextract (20 g. lever per ml.).
- 2,5 g. agar.
- $\text{H}_2\text{O}$  ad 100 ml.

Deze cultuur werd 2 keer per week overgeënt. De bepaling werd uitgevoerd in 4 ml. in buisjes van 12 mm. diameter. Er werd 3 min. bij 120° gesteriliseerd. De incubatie duurde 40 uur. Na de incubatie werd de pH van de vloeistof in de buisjes gemeten met behulp van een Philips pH-meter.

Het serum werd op de volgende manier ingezet:

1e. 3 ml. serum + 10 ml. 90% alcohol werden samengevoegd. Het neerslag werd afgefilterd en daarna nog uitgewassen met 5 ml. 70% alcohol. Het filtraat werd bij 30° C. ingedampt en daarna met aqua dest. in een maatkolf tot 25 ml. verdund. Van deze oplossing werd 0,5, 1, 1,5 en 2 ml. in de resp. buisjes gepipetteerd en zonodig aangevuld tot 2 ml.

2e. 3 ml. serum werd verdund tot 25 ml. en hiervan werd 0,5, 1, 1,5 en 2 ml. in de resp. buisjes gepipetteerd en zonodig aangevuld tot 2 ml.

Aan alle buisjes werd daarna 2 ml. basaal medium toegevoegd.

\*) Dit mengsel bevatte glucose, adenine, guanine, uracil, xanthine en alle aminozuren en vitaminen in de verhouding, zoals die gebruikt wordt in het basale medium met uitzondering van biotine.

Bij ons onderzoek is gebleken, dat deze methode dezelfde uitkomsten geeft als de verhitting gedurende 15 min. op 80°, die door MOLLIN en ROSS bij de Euglena-techniek is toegepast.

Er moet op gewezen worden, dat de *Lactobacillus leichmannii* ook gevoelig is voor nucleosiden. Bij enkele monsters is daarom nagegaan, of na verhitting van normaal serum bij pH 12 nog een groeibevorderend effect aantoonbaar was. Dit bleek niet het geval te zijn, zodat eventueel in serum aanwezige nucleotiden niet van praktisch belang zijn bij deze vitamine B12-bepaling.

Bij normale personen varieerden de uitkomsten van 0,3 tot 1,05 mγ per ml. De vitamine B12-activiteit van serum, afkomstig van onbehandelde lijders aan anaemia pernicioosa, van een patiënt met megaloblastaire voedingsanaemie, een patiënt met megaloblastaire anaemie ten gevolge van een maag-colon-fistel en een patiënt met megaloblastaire zwangerschapsanaemie, was geringer.

Daarentegen zagen wij bij een viertal patiënten, die alleen op foliumzuur reageerden, géén verlaging van de vitamine B12-spiegel; bij twee daarvan was deze zelfs hoger dan wij bij gezonde mensen vonden (zie tabel 7, 8 en 9).

Door de waarnemingen van het lage vitamine B12-gehalte van serum, de vermindering van de voorraad vitamine B12 in de lever bij perniciëuse anaemie en het geringere verlies met de urine bij deze ziekte wordt de hypothese, die is opgesteld op grond van de klinisch-therapeutische studie, ondersteund. Het staat wel vast, dat we in de eerste groep van megaloblastaire anaemieën, die goed reageert op vitamine B12-toediening, te doen hebben met een deficiëntie van vitamine B12.

De tot nu toe beperkte ervaringen met vitamine B12-bepalingen, zowel in de Postgraduate Medical School te Londen als in onze kliniek, wijzen er op, dat patiënten, die alleen op foliumzuur reageren, geen vitamine B12-gebrek hebben.

Een volgende stap in het onderzoek was een poging een indruk te krijgen van de in het lichaam aanwezige voorraden foliumzuur.

SPRAY, FOURMAN en WITTS 36) maakten hiertoe gebruik van een belastingsproef met 400 γ foliumzuur, waarbij de uitscheiding in de urine werd nagegaan met de *Lactobacillus casei*. Het bleek, dat bij een aantal patiënten met macrocytaire anaemie bij spruw inderdaad minder foliumzuur dan bij normalen in de urine aantoonbaar was vóór en ná de toediening van de testdosis. Bij perniciëuse anaemie was de uitscheiding normaal, soms was er echter een verlaagde uitscheiding na de testdosis. WITTS 37, 38) sprak de mening uit, dat deze uitkomsten wijzen op een foliumzuurgebrek bij perniciëuse anaemie, hoewel hij toegaf, dat er een zekere overlapping met normaal bestaat.

In onze kliniek is de foliumzuuractiviteit van het bloed van een aantal patiënten bepaald voor de *Streptococcus faecalis*. De uitkomsten moeten niet als absoluut worden geïnterpreteerd, maar zijn vergelijkende waarden.

TABEL 8

Vitamine B<sub>12</sub>-gehalte van serum van lijdende aan  
anaemia perniciosa

	<u>vrij</u>	<u>totaal</u>
H.H.	0,005	0,005 mγ/ml.
H.H.	0,005	0,07
J.R.	0,007	0,013
v.V.	0,005	0,017
J.S.	0,025	0,025
H.B.	0,025	0,025
A.O.	0,025	0,033
K.-R.	0,042	0,072
G.W.	0,083	0,075
S.d.V.-d.L.		0,08
H.T.-A.	0,025	0,086
F.-S.	0,025	0,090
J.B.		0,090
R.	0,050	0,12
J.N.		0,14
H.M.		0,16
M.H.-N.		0,17
J.W.		0,12
J.W.		0,15
J.W.		0,175

TABEL 10

Foliumzuuractiviteit van het bloed van een aantal  
normale personen voor de Streptococcus faecalis R.  
in mγ per mL.

1.	2,9	23.	6,9
2.	2,9	24.	7,5
3.	2,9	25.	7,9
4.	2,95	26.	8,0
5.	3,0	27.	8,2
6.	3,5	28.	8,6
7.	3,8	29.	8,6
8.	4,5	30.	9,0
9.	4,6	31.	9,3
10.	4,8	32.	9,8
11.	4,9	33.	10,4
12.	4,1	34.	10,5
13.	5,9	35.	10,8
14.	5,6	36.	10,9
15.	5,8	37.	12,1
16.	5,4	38.	12,5
17.	8,5	39.	12,75
18.	6,0	40.	13,5
19.	6,1	41.	14,4
20.	6,1	42.	23,1
21.	6,3	43.	24,1
22.	6,8		

TABEL 11

J.W.	0,0 mγ/ml	H.H.	4,25 mγ/ml
J.S.	1,5 mγ/ml	v.V.	5,5 mγ/ml
J.R.2.0	2,0	H.	5,5 mγ/ml
M.H.-N.	2,25	S.d.V.-d.L.	5,5
J.V.	2,4	H.B.	7,3
G.W.	2,4	J.N.	7,6
A.K.-R.	2,4	T.S.	16,2
H.T.-A.	3,75	A.T.	18,5

Foliumzuur-activiteit van het bloed van een aantal  
onbehandelde lijdende aan anaemia perniciosa

TABEL 9

Naam	Diagnose	Bijzonderheden; reactie op therapie		Vitamine B12 vrij	Vitamine B12 gebonden
T.B.-K.	meg. voedingsanaemie	reageerde op vit. B12.	voor therapie na therapie		0,175
A.E.B.	meg. anaemie bij maag-colonfistel				0,13
H.V.	inheemse spruw	meg. anaemie refractair tegen vit. B12, reageerde op foliumzuur.	voor vit. B12 therapie na vit. B12 therapie		0,95 2,4
A.R.	inheemse spruw	géén anaemie. Vit. B12 had géén effect, foliumzuur wel.	voor vit. B12 therapie		1,9
C.de H.	inheemse spruw	géén megaloblastaire anaemie.			
T.K.	inheemse spruw	géén megaloblastaire anaemie.			0,37
A.D.-B.	inheemse spruw	megaloblastaire anaemis, reageerde op vit. B12 met reticulocytentop. Het been- merg bleef megaloblastair. De megaloblasten verdwenen na toediening van citrovorum factor.	voor therapie  na 1 week vit. B12 voor het begin v.d. citrovorum factor en na staken v.d. vit. B12	0,075  0,083 0,063  0,120 0,133 0,200	0,24  0,182 0,13  0,580 0,580 0,66
P.J.	inheemse spruw	geen megaloblasten; leek wat verbeterd na behandeling met vit. B12.	voor therapie  na behandeling met vit. B12 en foliumzuur	0,040 0,040 0,040	0,375 0,400 *) 0,380 0,42
A.R.	tropische spruw	behandeld met leverextract.			0,46
A.L.-v.d.L.	megaloblastaire zwangerschaps- anaemie	reageerde op vit. B12.			
T.K.-W.	megaloblastaire zwangerschaps- anaemie	reageerde op vit. B12.		0,040 0,040 0,040 0,040	0,045 0,040 0,035 0,030 *)
G.B.-W.	megaloblastaire zwangerschaps- anaemie	"spontane" verbetering tijdens verblijf in de kliniek.			0,23
A.W.-d.V.	megaloblastaire zwangerschaps- anaemie	refractair tegen vit. B12, foliumzuur had wel effect.	voor therapie		1,60 0,60
R.T.-W.	monocytenleucaemie	megaloblastaire veranderingen in het beenmerg.		0,250	0,375

Uitkomsten van bepalingen van foliumzuur en vitamine B12 bij diverse  
patiënten, uitgedrukt in  $\mu$ g per ml.

\*) Voor deze bepalingen met de Euglena gracilis-methode zijn  
schuldigd aan Dr. D.L. Mollin en Dr. G.I.M. Ross, Postgraduate  
School, London.

#### Methodiek:

Het basale medium, dat wij gebruikten, was dat, aangegeven door TEPLY en ELVEHJEM 39) met twee kleine wijzigingen.

1.  $K_2HPO_4$  werd vervangen door  $KH_2PO_4$  (VAN FOREEST 40)).
2. 4 mg. pyridoxal per 40 g. glucose werd toegevoegd. De bepaling werd uitgevoerd in buisjes van 12 mm. diameter. Er werd 3 min. bij  $120^\circ C$  gesteriliseerd. De incubatie duurde 20 uur. Na de incubatie werd de pH van de vloeistof in de buisjes gemeten met behulp van de Philips pH-meter. Het bloed werd op de volgende manier ingezet: 2 ml. bloed werd verdund tot 25 ml. Hiervan werd 0,5, 1, 1,5 en 2 ml. in de resp. buisjes gepipetteerd en zo nodig aangevuld tot 2 ml. Er werd 2 ml. basaal medium aan elk buisje toegevoegd.

Bij normale personen varieerden de uitkomsten van 2,9 tot 24,0 m  $\gamma$  per ml. (zie tabel 10). Bij een zestal patiënten met spruw werden lagere uitkomsten gevonden, hoewel slechts bij twee megaloblastaire veranderingen in het beenmerg bestonden. Ook zagen we een patiënte met chronisch verlopende monocytenucleaemie met megaloblasten in het beenmerg. Bij haar was het vitamine B12-gehalte normaal, de foliumzuurspiegel laag. Bij één patiënte met megaloblastaire graviditeitsanaemie, die alleen op foliumzuur reageerde, was de foliumzuurspiegel laag. VILTER 8) vond bij een soortgelijke patiënte een normale foliumzuurbelastingsproef, hoewel zij goed reageerde op foliumzuurbehandeling. Hij meent daarom, dat bij haar geen foliumzuurtekort bestond. Hiervan bleek bij onze beperkte ervaring niets, zodat zijn uitspraak niet opgaat voor andere, soortgelijke gevallen. Het lijkt wel mogelijk, dat de testdosis foliumzuur, die gebruikt werd door VILTER, te groot is. Deze is tenminste veel groter dan die gebruikt door SPRAY c.s.

Voorlopig lijkt het ons veilig, zowel op grond van het werk van SPRAY, FOURMAN en WITTS als op grond van de eigen onderzoeken over de bloedspiegel, aan te nemen, dat foliumzuurtekort bestaat in die gevallen van megaloblastaire anaemie, die alleen op foliumzuur reageren.

Een 16-tal lijders aan perniciëuse anaemie is bestudeerd. Hierbij bleken in zeven gevallen lage waarden te bestaan vóór de behandeling, zodat men inderdaad geneigd zou kunnen zijn de opinie van WITTS te accepteren, dat bij perniciëuse anaemie een foliumzuurgebrek kan bestaan (zie tabel 11).

Uit tabel 12 blijkt echter, dat in het verloop van de behandeling met vitamine B12 de foliumzuurspiegel stijgt, zonder dat extra foliumzuur wordt toegevoerd. Het is dus waarschijnlijk, dat de foliumzuuractiviteit van het bloed bij perniciëuse anaemie niet alleen een weerspiegeling is van de foliumzuurvoorraad, maar dat een mobilisatie van de voorraad waarschijnlijk ook een rol speelt.

O.i. zijn er niet voldoende bewijzen om de perniciëuse anaemie in engere zin als een gecombineerde deficiëntie van vitamine B12 en foliumzuur te beschouwen, zoals SPRAY c.s. doen. Wij zijn dan ook geneigd een scherpe lijn te trekken tussen de groep, die op vitamine B12 reageert en de groep die alleen op foliumzuurtherapie verbeterd, dit in tegenstelling tot WITTS.



Toch moet wel aan de mogelijkheid van een gecombineerde deficiëntie gedacht worden in gevallen van spruw en voedingsanaemie.

Zo zagen wij het volgende geval (A.D.-B.): zij reageerde met een reticulocytentop op intramusculaire vitamine B12-toediening (zie hoofdstuk I). Toch steeg het aantal erythrocyten slechts weinig, terwijl ook het beenmerg megaloblastair bleef. Zowel vóór als ná de vitamine B12-toediening was de foliumzuuractiviteit van het bloed te laag. De vitamine B12-spiegel was lager dan bij normale personen, hoewel de daling minder uitgesproken was dan bij genuiene perniciëuse anaemie.

Samenvattend kan dus gezegd worden, dat op grond van systematische behandeling met vitamine B12 en, indien dit niet effectief is, met foliumzuur, de megaloblastaire anaemieën in twee groepen moeten worden ingedeeld. Op grond van de klinische bevindingen hebben we aangenomen, dat één groep, nl. die, waarin neurologische afwijkingen kunnen worden aangetroffen, berust op vitamine B12-gebrek en dat in de tweede groep foliumzuurdeficiëntie bestaat <sup>41</sup>). Door vitamine B12-bepalingen in serum is de juistheid van deze hypothese nader aangetoond, terwijl ook de gegevens, verkregen door foliumzuurbepalingen, met deze theorie in overeenstemming te brengen zijn.

## LITERATUUR

1. M.M. Wintrobe:  
Clinical Hematology. 2<sup>nd</sup> Ed., 1946; 3<sup>rd</sup> Ed., 1951.  
Philadelphia.
2. L. Wills en B.D.F. Evans:  
Lancet 2 - 416 - 1938.
3. W.J. Bruins Slot:  
N.T.v.G. 90 - 1779 - 1946.
4. C.F. Vilter, R.W. Vilter en T.D. Spies:  
J. Lab. Clin. Med. 32 - 335 - 1947.
5. B.E. Hall en C.H. Watkins:  
J. Lab. Clin. Med. 32 - 622 - 1947.
6. J.F. Ross, H. Belding en B.L. Paegel:  
Blood, J. Hematol. 3 - 68 - 1948.
7. D.L. Mollin:  
Lancet 2 - 928 - 1948.
8. R.W. Vilter, D. Horrigan, J.F. Mueller, T. Jarrold,  
C.F. Vilter, V. Hawkins en A. Seaman:  
Blood, J. Hematol. 5 - 695 - 1950.
9. S.O. Schwartz, S.R. Kaplan en B.E. Armstrong:  
J. Lab. Clin. Med. 35 - 894 - 1950.
10. G.E. Cartwright en M.M. Wintrobe:  
Ann. Rev. Physiol. 11 - 335 - 1949.

11. F.H. Bethell, M.C. Meyers en R.B. Neligh:  
J. Lab. Clin. Med. 33 - 1477 - 1948.
12. F.H. Bethell:  
J. Am. Diet. Ass. 26 - 89 - 1950.
13. L.A. Day, B.E. Hall en G.L. Pease:  
Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 24 - 149 - 1949.
14. V. Ginsberg, J. Watson en H. Lichtman:  
J. Lab. Clin. Med. 36 - 238 - 1950.
15. R.H. Fierman, W.B. Daniels, L.L. Hefner, E. Jones en  
W.J. Darby:  
Am. Pract. Dig. Treat. 1 - 146 - 1950.
16. C.C. Ungley en R.B. Thompson:  
Brit. Med. J. 1 - 919 - 1950.
17. R.B. Thompson en C.C. Ungley:  
Quart. J. Med. 20 - 187 - 1951.
18. U. Haenel:  
Klin. Wochenschr. 28 - 471 - 1950.
19. M.C. Verloop:  
Persoonlijke mededeling.
20. C.R. Das Gupta:  
Voordracht Int. Congres voor Haematologie.  
Cambridge, 1950.
21. A. van der Sar:  
Persoonlijke mededeling.
22. J.C. Patel:  
Brit. Med. J. 1 - 934 - 1948.
23. T.D. Spies, R.E. Stone, G.G. Lopez, F. Milanese,  
R.L. Toca en T. Aramburu:  
Lancet 2 - 454 - 1949.
24. P. Manson-Bahr:  
J. Trop. Med. Hyg. 54 - 89 - 1951.
25. P.B. van Steenis:  
N.T.v.G. 92 - 3990 - 1948.
26. P.B. van Steenis:  
N.T.v.G. 92 - 2606 - 1948.
27. R.M. van Deth:  
N.T.v.G. 94 - 3452 - 1950.
28. M.C. Verloop en E. Florijn:  
N.T.v.G. 95 - 454 - 1951.
29. G. Björkenheim:  
Acta Med. Scand. Suppl. 260 - 1 - 1951.
30. B. von Bonsdorff:  
Blood, J. Hematol., 3 - 91 - 1948.
31. C.C. Ungley:  
Nutr. Abstr. Rev. 21 - 1 - 1951.
32. R. Wolff, P.L. Drouet en R. Karlin-Weismann:  
C.R. Acad. Sci. 232 - 568 - 1951.
33. D.L. Mollin en G.I.M. Ross:  
Voordracht Int. Congres Clin. Path. Londen, 1951.
34. G.I.M. Ross:  
Nature 166 - 270 - 1950.

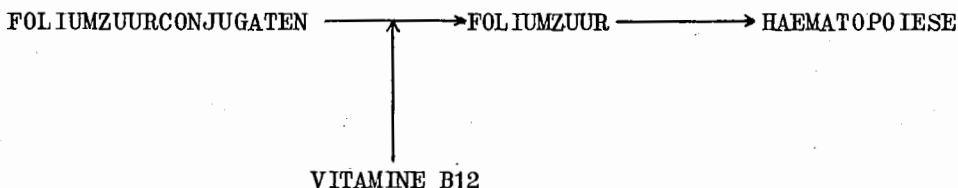
35. H.R. Skeggs en L.D. Wright:  
J. Biol. Chem. 184 - 211 - 1950.
36. G.H. Spray, P. Fourman en L.J. Witts:  
Brit. Med. J. 2 - 202 - 1951.
37. L.J. Witts:  
Voordracht Int. Congres Clin. Path. Londen, 1951.
38. L.J. Witts:  
Lancet 2 - 367 - 1951.
39. L.J. Teply en C.A. Elvehjem:  
J. Biol. Chem. 157 - 303 - 1945.
40. D. van Foreest:  
Proefschrift. Amsterdam, 1950.
41. H.O. Nieweg, F.S.P. van Buchem en W.F. Stenfert Kroese:  
Acta Med. Scand. 142 - 45 - 1952.

### HOOFDSTUK III

## Opmerkingen over het verband tussen factoren van de foliumzuurgroep en vitamine B12

Onlangs werd in een redactioneel artikel in de Lancet <sup>1)</sup> gewaarschuwd tegen voorbarige speculaties over de pathogenese van de megaloblastaire anaemieën. Deze woorden waren niet overbodig, als men ziet, hoe verschillende hypothesen, opgesteld sinds de eerste publicaties over de werking van foliumzuur bij pernicieuse anaemie verschenen, praematuur bleken. De kennis van de factoren, die bij megaloblastaire anaemie therapeutisch actief zijn, ligt op een kruispunt van biochemie, microbiologie, voedingsleer en klinische geneeskunde, zodat het gebied onoverzichtelijk is. Het is daarom een hachelijke onderneming als klinicus te speculeren over de relatie tussen deze factoren.

Aanvankelijk werd in de Verenigde Staten de theorie <sup>2, 3, 4, 5, 6)</sup> naar voren gebracht, dat toediening van gezuiverde leverpraeparaten de patiënt met pernicieuse anaemie in staat zou stellen foliumzuur vrij te maken uit de met de voeding aangeboden conjugaten. Als men het schema in fig. 6



Figuur 6.

overziet, is het duidelijk, waarom bij gebrek aan foliumzuur(-conjugaten) vitamine B12-toediening geen effect heeft. Ook is zo op eenvoudige wijze te verklaren waarom bij vitamine B12-gebrek niet alleen vitamine B12, maar ook foliumzuur werkzaam is.

Deze theorie was gebaseerd op waarnemingen over de foliumzuurexcretie na toediening van het conjugaat pteroylhexaglutaminezuur. Gezonde personen scheidden meer foliumzuur uit bij deze belastingsproef dan lijders aan pernicieuse anaemie. Bij deze patiënten bleef een haematologische reactie uit, terwijl foliumzuur wel actief was. Naderhand bleek, dat de gistconcentraten, die als bronnen van het conjugaat

dienden in deze experimenten, "conjugase-inhibitors" bevatten, die althans ten dele, verantwoordelijk werden geacht voor de verminderde excretie en het uitblijven van een haematologische reactie bij de patiënten (zie GIRDWOOD 7)).

Sindsdien is gebleken, dat bij lijders aan perniciëuse anaemie foliumzuur niet in staat is de aanvankelijke remissie te handhaven 8, 9). Ook toonden WILKINSON en ISRAELS 10) aan, dat de synthetische conjugaten pteroyldiglutaminezuur en pteroyltriglutaminezuur actief waren bij perniciëuse anaemie. Heftige critiek is op hun werk gekomen van de kant van de Edinburghse onderzoekers DAVIDSON en GIRDWOOD. Deze waren van mening, dat de door WILKINSON en ISRAELS gebruikte dosering abnormaal hoog was en dat bovendien de activiteit van synthetische conjugaten niet bewijst, dat de in de natuur voorkomende conjugaten ook actief zijn. In dit verband werd door GIRDWOOD gewezen op de proeven van MEYERS c.s. 11). Deze laatsten namen waar, dat foliumzuurantagonisten de haematologische reactie, die bij lijders aan perniciëuse anaemie optreedt na toediening van vitamine B12, voorkwamen. GIRDWOOD houdt dan ook vast aan de mening, dat patiënten met perniciëuse anaemie foliumzuur niet op normale wijze utiliseren en bijzonder gevoelig zijn voor "conjugase-inhibitors". De oorspronkelijke auteur (WELCH 12)) heeft zijn hypothese verlaten, volgens welke foliumzuur de eigenlijke haematopoietische stof is, terwijl vitamine B12 alleen indirect via het foliumzuur werkzaam zou zijn.

In verband met dit vraagstuk hebben we de invloed van vitamine B12 op de foliumzuuractiviteit van het bloed voor de *Streptococcus faecalis* bestudeerd bij zeven lijders aan anaemia perniciosa. Naast de direct aantoonbare activiteit is ook de activiteit na bewerking met papaïne bepaald om een indruk te krijgen van de aanwezige hoeveelheid conjugaten. Indien vitamine B12 zou werken door foliumzuur vrij te maken uit zijn conjugaten, zou men stijging verwachten van de directe foliumzuuractiviteit en daling van de totale activiteit.

#### Methode:

2 ml. bloed + 20 mg. papaïne + 20 ml. acetaatbuffer pH 4,5 (11,6 g. acetaat/l.) werd 20 uur geïncubeerd bij 37° C onder toluëen. Na incubatie werd 15 minuten verhit op een stomend waterbad en daarna tot 50 ml. verdund.

Hiervan werd weer  $\frac{1}{2}$ , 1,  $1\frac{1}{2}$  en 2 ml. in de resp. buisjes gepipetteerd en zonodig aangevuld tot 2 ml. Aan alle buisjes werd dan 2 ml. medium toegevoegd.

Uit de gegevens in tabel 12 blijkt, dat soms al na 2 uur een daling zowel van de direct meetbare activiteit als van de totale gemeten foliumzuur-activiteit optreedt. Deze waarneming pleit niet voor de theorie, dat vitamine B12 haematopoietisch zou werken, doordat foliumzuur vrijgemaakt wordt.

De groep van VILTER vond, dat een lijder aan perniciëuse anaemie, die behandeld werd met 10 mg. foliumzuur per dag, daarvan 60% in de urine uitscheidde. Na toediening van le-

TABEL 12

Naam	Dosis vit. B12	0 uur		2 uur		6 uur		17 uur		24 uur		48 uur		72 uur		5
Ha	60 γ	5,5	24,0	4,0	16,3					2,9	20,9					
Ni	80 γ	7,6	24,3	8,7	17,8							4,6	25,8			
Ho	80 γ	2,25	18,25	0,0	15,85					1,08	14,12			2,69	14,12	4,87
Ve	80 γ	2,4	14,0			1,3	11,9	3,0	12,5	1,8	11,7	2,2	13,1			
de V.-de L	80 γ	6,25	22,0	6,38	21,8					1,18	19,0			18,88	35,0	
Wa	80 γ	2,4	12,0	2,5	11,25	3,1	13,5			2,6	12,0			3,75	14,0	4,2
Ru	80 γ			3,0	13,5	2,0	14,0			0,5	14,0	1,25	12,25	3,0	14,20	6,5

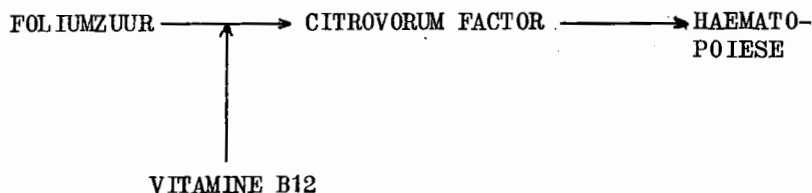
Hierin worden de uitkomsten van de foliumzuur-bepalingen in bloedmonsters van patiënten met perniciëuse anaëmië. Deze monsters zijn genomen op verschillende tijden na behandeling met vitamine B12. In de linker helft van de tabel de waarde van de direct meetbare foliumzuur-activiteit uitgedrukt in mγ per ml., in de rechter helft de toezuor-activiteit na bewerking met papaïne.

verextract daalde de excretie tot 25% van de dagdosis foliumzuur om na enige dagen weer tot 60% op te lopen.

Het lijkt meer waarschijnlijk, dat vitamine B12 en foliumzuur beide betrokken zijn als coenzymen in éénzelfde synthese-proces, waarbij deze stoffen aangrijpen in verschillende stadia. Deze hypothese is naar voren gebracht in besprekingen van studies over de stofwisseling van bacteriën (WRIGHT c.s. 13), JUKES c.s. 14)). Indien vitamine B12 wordt gegeven aan de onbehandelde lijder aan anaemia perniciosa, kan het aanvankelijk door vitamine B12-gebrek geremde syntheseproces weer op gang komen. Door de versnelling van het proces zal meer foliumzuur verbruikt worden, zodat de foliumzuurspiegel van het bloed daalt.

Eveneens pleit voor deze theorie, dat bij een patiënte met megaloblastaire zwangerschapsanaemie, die refractair tegen vitamine B12 was, na foliumzuurtherapie een daling van de vitamine B12-spiegel optrad. Ook wijzen de hoge vitamine B12-waarden, gevonden bij patiënten met foliumzuurgebrek, in de richting van een verminderd verbruik door de weefsels van vitamine B12, als de bloedvorming vertraagd is door tekort aan foliumzuur.

De opvatting, dat de haematopoietische werking van vitamine B12 via het foliumzuur zou gaan, is naderhand weer naar voren gekomen in gewijzigde vorm. In de derde druk van zijn boek wees WINTROBE erop, dat het mogelijk is, dat de citrovorum factor wordt gevormd uit foliumzuur onder invloed van vitamine B12 (zie fig. 7). De groep van ELVEHJEM vond bij



Figuur 7.

proefdieren een toename van de hoeveelheid citrovorum factor in de lever na toediening van vitamine B12 16). GIRDWOOD deed een onderzoek over het voorkomen van foliumzuur en citrovorum factor in de lever van geobduceerde patiënten. Het bleek hem, dat de groei bevorderende werking van deze levers voor Streptococcus faecalis geheel berustte op de aanwezigheid van citrovorum factor. Foliumzuur werd echter niet aangetroffen. Bij een tevoren onbehandelde patiënt met perniciëuse anaemie, die één dag na een injectie van 100  $\gamma$  vitamine B12 overleed, was daarentegen veel foliumzuur in de lever

aanwezig. In een latere publicatie <sup>17)</sup> wezen WINTROBE e.a. er op, dat de citrovorum factor in dezelfde dosering moet worden toegediend als foliumzuur bij de behandeling van perniciëuse anaemie (zie ook CASTLE <sup>18)</sup>). De haëmatopoiëtische activiteit van beide factoren is gelijk bij perniciëuse anaemie, zodat het onwaarschijnlijk moet worden geacht, dat het essentiële moment bij deze ziekte ligt in een door vitamine B12-gebrek gestoorde omzetting van foliumzuur in citrovorum factor.

Uit tabel 12 blijkt, dat enige dagen na de toediening van vitamine B12 weer een stijging van de foliumzuuractiviteit van het bloed optreedt, zonder dat extra foliumzuur aan de patiënt wordt toegediend.

Bij perniciëuse anaemie is de foliumzuuractiviteit van het bloed vaak laag, in ons materiaal bij ongeveer de helft van het aantal onderzochte patiënten. SPRAY en WITTS zijn van mening, dat de foliumzuurspiegel altijd laag is, hoewel er een zekere overlapping met normale waarden gezien werd.

Onze ervaringen echter maken het niet aannemelijk, dat bij ongecompliceerde genuiene perniciëuse anaemie foliumzuurgebrek bestaat.

Door SPRAY en WITTS werden bij onbehandelde lijders aan perniciëuse anaemie zowel na een orale als na een intraveneuse testdosis foliumzuur een lagere bloedspiegel en een geringere excretie in de urine van dit vitamine gevonden dan bij normale personen. Zij nemen daarom een vergroting van de behoefte aan foliumzuur aan door een vermeerderd verbruik in de weefsels bij de onbehandelde lijder. Onze gegevens wijzen echter juist op een vermeerdering van de utilisatie van foliumzuur door vitamine B12-toediening.

Het lijkt mogelijk, vooral ook op grond van de waarneming van GIRDWOOD, dat het in de lever in een of andere vorm opgeslagen foliumzuur onder invloed van vitamine B12 wordt omgezet en gemobiliseerd. Het is natuurlijk de vraag, of we hier met een directe of een indirecte werking van vitamine B12 op de foliumzuurstofwisseling te maken hebben. Een aanwijzing voor een direct effect hebben wij niet gevonden.

Met deze hypothese zijn ook de waarnemingen over de geringe foliumzuuractiviteit van het bloed in de helft van de door ons bestudeerde gevallen van anaemia perniciosa te verklaren.

O.i. is de invloed van vitamine B12 op de huishouding van foliumzuur en verwante stoffen bij perniciëuse anaemie tweeledig:

1. door vitamine B12-therapie wordt het verbruik van foliumzuurachtige stoffen door de bloedvormende weefsels versneld.
2. vervolgens wordt foliumzuur uit de lever gemobiliseerd en komt vermoedelijk in de vorm van citrovorum factor ter beschikking van de weefsels.



## LITERATUUR

1. Leading article:  
Lancet 1 - 623 - 1951.
2. R.W. Heinle en A.D. Welch:  
Ann. New York Acad. Sci. 48 - 347 - 1946.
3. A.D. Welch, R.W. Heinle, E.M. Nelson en H.V. Nelson:  
Ann. New York Acad. Sci. 48 - 347 - 1946.
4. F.H. Bethell, M.E. Swendseid, O.D. Bird, M.C. Meyers,  
G.A. Andrews en R.A. Brown:  
Univ. Hosp. Bull., Univ. of Michigan 12 - 42 -  
1946.
5. F.H. Bethell, M.C. Meyers, G.A. Andrews, M.E. Swendseid,  
O.D. Bird en R.A. Brown:  
J. Lab. and Clin. Med. 32 - 3 - 1947.
6. M.E. Swendseid, O.D. Bird, R.A. Brown en F.H. Bethell:  
J. Lab. and Clin. Med. 32 - 23 - 1947.
7. R.H. Girdwood:  
Blood, J. Hematol. 7 - 77 - 1952.
8. R.W. Vilter, D. Horrigan, J.F. Mueller, T. Jarrold, C.F.  
Vilter, V. Hawkins en A. Seaman:  
Blood, J. Hematol. 5 - 695 - 1950.
9. S.O. Schwartz, S.R. Kaplan en B. Armstrong:  
J. Lab. and Clin. Med. 34 - 1747 - 1949.
10. J.F. Wilkinson en M.C.G. Israels:  
Lancet 2 - 689 - 1949.
11. L.M. Meyer, N.D. Ritz, A. Caccese, J. Rutzky, A. Sawitsky  
en G. Bock:  
Am. J. Med. Sci. 218 - 197 - 1949.
12. A.D. Welch:  
Fed. Proc. 6 - 471 - 1947.
13. L.D. Wright, H.R. Skeggs en J.W. Huff:  
J. Biol. Chem. 175 - 478 - 1948.
14. T.H. Jukes, H.P. Broquist en E.L.R. Stokstad:  
Arch. Bioch. 26 - 157 - 1950.
15. M.M. Wintrobe:  
Clinical Hematology. 3rd Ed. Philadelphia, 1951.
16. L.S. Dietrich, W.J. Monson en C.A. Elvehjem:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77 - 93 - 1951.
17. G.E. Cartwright, M.M. Wintrobe, H.P. Broquist en T.H.  
Jukes:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78 - 563 - 1951.
18. W.B. Castle:  
Editorial comment in: Yearbook of Medicine.  
Chicago, 1951.

## HOOFDSTUK IV

### De pathogenese van ziekten ontstaan door vitamine B12- en foliumzuur-gebrek

In een vorig hoofdstuk werd betoogd, dat vitamine B12 en foliumzuur waarschijnlijk een rol spelen als coenzymen in verschillende fasen van één biologisch syntheseproces. Het blijkt, dat de *Lactobacillus casei*, die foliumzuur nodig heeft voor de groei, toch in een foliumzuur-arm medium kan groeien, indien thymine toegevoegd is <sup>1, 2</sup>). Vitamine B12 kan als groeifactor voor de *Lactobacillus leichmannii* vervangen worden door grotere hoeveelheden van het nucleoside thymidine <sup>3</sup>). Vitamine B12 en foliumzuur spelen dus een rol bij de synthese van nucleinezuren <sup>4</sup>). Waarnemingen bij lijders aan perniciëuse anaemie en spruw wijzen er ook inderdaad op, dat hier een stoornis in de nucleinezuursynthese ten grondslag ligt aan de aandoening. SPIES c.s. <sup>5, 6, 7</sup>) en PETRIDES <sup>8</sup>) beschrijven gunstige resultaten van de toediening van thymine bij anaemia perniciosa en spruw. Uracil heeft wel effect bij perniciëuse anaemie, maar bleek niet actief in één geval van megaloblastaire zwangerschapsanaemie <sup>4</sup>). UNGLEY <sup>9</sup>), REISNER en WEST <sup>10</sup>) en in ons land TEN BERG e.a. <sup>11</sup>) zagen van thymidine géén therapeutische werking, maar HAUSMANN <sup>12</sup>), die een hogere dosering gaf, beschreef een remissie bij twee patiënten met perniciëuse anaemie na toediening van thymidine.

Voor het inzicht in de pathogenese der onderscheidene ziektebeelden bij vitamine B12- en foliumzuurgebrek is het van belang, dat men onder de nucleinezuren twee groepen kan onderscheiden: de desoxyribosenucleinezuren (DNA) en de ribosenucleinezuren (RNA). DNA vindt men alleen in de kern, waar het een essentieel bestanddeel vormt van de chromosomen; RNA is voornamelijk in het cytoplasma en in de nucleoli (kernlichaampjes) aan te tonen. Beide groepen reageren door hun zuur karakter met de bekende basische kleurstoffen zoals methyleenblauw en haematoxyline en zijn dus zowel verantwoordelijk voor de typische kleurbaarheid van kernpatroon en chromosomen als voor de cytoplasmabasophilie van b.v. jonge bloedcellen. Van beide stoffen neemt men aan, dat ze een rol spelen in cellulaire syntheseprocessen: van de RNA voornamelijk in het cytoplasma bij de opbouw van protoplasmaeiwitten, van de DNA in de kern o.a. bij de celdeling <sup>13</sup>). Hoewel DNA en RNA beide polymerisatieproducten zijn van nucleotiden, polynucleotiden dus, onderscheiden de beide groepen zich op verschillende punten. Een nucleotide is opgebouwd uit fosforzuur-pentose-purine- resp. pyrimidinebase. Behalve in de pentose, waarop de naamgeving is gebaseerd, verschillen DNA

en RNA in de pyrimidinebasen. Naast guanine en adenine treft men in DNA aan thymine en cytosine, in RNA uracil en cytosine.

Door THORELL 14) is het verband tussen het nucleïnezuur-gehalte van jonge bloedcellen en hun morphologische ontwikkelingsgang bestudeerd. Bij de ontwikkeling van de stamcellen naar de rijpe bloedcellen vond hij een sterke toename van het totale celvolume (aantal cellen x volume per cel). De snelheid van deze toename loopt parallel aan de hoeveelheid RNA in het cytoplasma van de cellen: bij de overgang van myeloblast via promyelocyt en myelocyt naar metamyelocyt is er in de jongste stadia een sterke totale volumetoename, in de latere stadia neemt deze geleidelijk af, hoewel celdelingen hier wel worden gevonden; tussen myelocyt en metamyelocyt wordt bij bestaande vermenigvuldiging een totale volumetoename niet meer gevonden. De opbouw van cytoplasmatische eiwitten is dus het meest intensief in de jongste cellen, waar de cytoplasmabasophilie, dus het RNA-gehalte van het cytoplasma, het hoogste is. Weliswaar worden in alle stadia tot en met de myelocyt celdelingen gevonden, maar celdelingen van myelocyten leiden niet meer tot enige belangrijke totale volumetoename: er is nog wel vermenigvuldiging, maar géén celgroei meer.

Het is duidelijk, dat die waarnemingen in strijd zijn met de opvatting van ROHR 15), dat de normale behoefte aan segmentkernigen gedekt zou kunnen worden door celdelingen van myelocyten, waarbij de dochtermyelocyten tot rijpe segmentkernigen zouden uitrijpen (homoplastische haematopoïese). Volgens THORELL zouden myelocyten zich slechts in beperkte mate kunnen vermenigvuldigen, b.v. één keer, omdat celgroei niet meer mogelijk is en vermenigvuldiging dus gaat ten koste van halvering van het celvolume. Dit betekent, dat wat ROHR homoplastische deling noemt, in het schema van THORELL toch heteroplastisch blijkt te zijn, omdat de dochtercellen niet identiek zijn met de moedercel. Voortdurend zouden jongere cellen, promyelocyten, resp. myeloblasten, nieuwe generaties myelocyten moeten leveren; voortdurend wordt er dus een beroep gedaan op de stamvormen (heteroplastische haematopoïese).

Daarnaast merkt THORELL evenwel op, dat bij megalocyttaire anaemieën behalve het grotere individuele celvolume der rijpe vormen al in de jongere cellen differentiatie wordt gevonden, b.v. haemoglobine in RNA-rijke erythroblasten. M.a.w. de megaloblastaire haematopoïese is gekarakteriseerd door het optreden van kenmerken van differentiatie wanneer de celgroei nog niet is afgesloten. Hiermee nu is hij in overeenstemming met ROHR, die een rijpingsremming in megaloblastaire beenmerg niet wil aannemen, maar een uitrijping van jongere celvormen als het wezenlijke kenmerk van de megaloblastaire haematopoïese beschouwt. Merkwaardigerwijze formuleert ROHR deze opvatting inconsequent: "Das wesentliche

Merkmal erblicken wir in der Unfähigkeit der Markzellen sich von der undifferenziertesten Entwicklungsstufen auf heteroplastisch-mitotischem Wege weiter zu entwickeln". Immers het is juist het achterwege blijven van de homoplas-tische vermenigvuldiging der latere stadia (myelocyten, normoblasten), waardoor de jongere stadia zich zonder mitosen (!) differentieren.

Uit deze gegevens is ook de paradoxale toestand begrijpelijk, dat bij een megalocyttaire anaemie het beenmerg uitermate rijk is aan de jongere celvormen, een toestand, die men veelal als "rijpingsremming" aanduidt, terwijl er in feite een belemmering van vermenigvuldiging, mitose dus, in de latere stadia bestaat. Er bestaat m.a.w. een linksverschuiving in het beenmerg, die niet berust op een versterkte aanmaak ook van jongere vormen, zoals b.v. in de rode reeks bij ernstige bloedingen of in de witte reeks bij ontstekingen, maar die juist een uiting zou zijn van het onvermogen tot celdeling voornamelijk in de latere stadia.

Kan men de "fehlerhafte Karyokinese", die wij met ROHR als wezenlijk zien, aan een gestoorde nucleinezuursynthese toeschrijven? Er is reeds op gewezen, dat de DNA in de celkern gelocaliseerd is als een essentieel onderdeel van de chromosomen. Uit de onderzoeken van BOIVIN, VENDRELY en VENDRELY 16) is gebleken, dat de hoeveelheid DNA per cel nagenoeg constant is voor een bepaalde diersoort. Dit is bevestigd door SWIFT 17). Deze vond, dat in polyploide cellen de hoeveelheid DNA een veelvoud is van het quantum in diploide cellen. In de haploide spermatozoa is het DNA-gehalte van de cel gehalveerd. Bij de celdeling is voor een verdubbeling van het aantal chromosomen een productie van DNA noodzakelijk.

De argumenten, die voor een stoornis in de DNA-synthese pleiten, zijn drieledig:

1. de chromosomen, de DNA-houdende structuren, vertonen bij megaloblastaire anaemieën een karakteristieke verandering.

2. in een voorlopige mededeling melden MUELLER, GLAZER en VILTER 18), dat zij met papierchromatographie de purine- en pyrimidinebasen in beenmergmonsters konden scheiden. Bij onbehandelde pernicieuse anaemie was het thyminegehalte laag. Na therapie steeg de thymineconcentratie, terwijl de hoeveelheid uracil afnam.

3. na toediening van thymine en thymidine verdwijnt de megaloblastaire haematopoiese.

Op grond hiervan lijkt het ons aannemelijk, dat de megaloblastaire bloedvorming een gevolg is van een gestoorde DNA-synthese en dat men verband mag leggen tussen de microbiologische gegevens en de cytologie van het beenmerg.

Bij gebrek aan foliumzuur of vitamine B12 kan men laesies verwachten in die weefsels, die de hoogste behoefte hebben aan deze vitaminen. Dit zijn de weefsels met de meest inten-

sieve DNA-synthese, d.w.z. die met het grootste aantal kerndelingen. Naast het beenmerg is het maagdarmkanaal gekenmerkt door een snelle regeneratie. Dit blijkt uit het histologisch onderzoek en komt tot uiting in de gevoeligheid van het haematopoietische systeem en de tractus intestinalis voor Röntgenbestraling en nitrogenmustard. Deze worden in de kliniek toegepast om hun remmende werking op de celdeling. BERNIER <sup>19)</sup> heeft er in een studie over de gevolgen van de atoombomexplosies in Japan op gewezen, dat ook het mondslijmvlies zeer gevoelig is voor bestraling. Deze eigenschap zou volgens hem een weerspiegeling zijn van de gevoeligheid van de andere gedeelten van de tractus intestinalis.

De megaloblastaire veranderingen in het beenmerg, die zich uiten in anaemie en granulocytopenie, de glossitis en de andere darmanifestaties van gebrek aan vitamine B12 of foliumzuur zijn te beschouwen als gevolgen van een regeneratiestoornis, die wij toeschrijven aan een gestoorde synthese van DNA.

Naast de DNA-synthese beïnvloedt vitamine B12 echter ook de RNA-stofwisseling. STERN c.s. <sup>20)</sup> vonden, dat de basophilie van het cytoplasma van de levercel, die een indicator is van het RNA-gehalte, afhankelijk is van de vitamine B12-toevoer met het dieet.

In een cytologische studie over het effect van foliumzuur-antagonisten beschreef DUSTIN <sup>21)</sup> de verschillende fasen van de veranderingen, die deze stoffen veroorzaken in het darmslijmvlies van muizen. Hij toonde aan, dat deze antagonisten voornamelijk de DNA-houdende structuren aantasten. Het effect van aminoptherine op het zich ontwikkelende kippenembryo en op de bacteriegroei kan worden tegengegaan met thymidine <sup>22, 23)</sup>. Er is reeds vermeld, dat foliumzuur als groeifactor voor *Streptococcus faecalis* en *Lactobacillus casei* kan worden vervangen door thymine en door DNA-praeparaten. Toevoeging van RNA-praeparaten aan de voedingsbodem heeft géén effect <sup>24)</sup>. PRUSOFF, TEPLY en KING namen waar, dat bij de *Lactobacillus casei*, gekweekt in een foliumzuur-deficient medium, een verlaging van het DNA-gehalte optrad, maar dat het RNA-gehalte niet beïnvloed werd <sup>25)</sup>.

Het is daarom waarschijnlijk, dat de invloed van het foliumzuur zich beperkt tot de synthese van DNA; dit in tegenstelling tot vitamine B12, dat essentieel is zowel voor de RNA- als voor de DNA-stofwisseling.

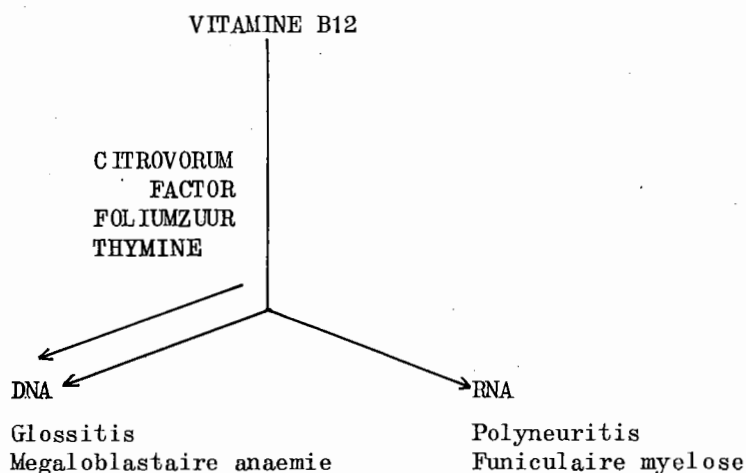
In het beenmerg worden voortdurend nieuwe cellen gevormd, waarvoor een synthese van DNA vereist is. Daartegenover is het kenmerkend voor de zenuwcel, dat hij zich op de volwassen leeftijd niet meer deelt. Anderzijds is juist een karakteristieke eigenschap van deze laatste een intensieve RNA-stofwisseling <sup>26)</sup>.

Klinische ervaringen hebben geleerd, dat thymine, een bouwsteen van DNA, effect heeft op het beenmerg. Neuro-

logische afwijkingen kunnen echter ontstaan bij perniciëuse anaemie tijdens thymine therapie (SPIES c.s.).

Deze opmerkingen werpen enig licht op de empirische gegevens, dat foliumzuurgebrek géén afwijkingen van het zenuwstelsel veroorzaakt bij de volwassen mens en dat behandeling met foliumzuur en citrovorum factor in gevallen met een vitamine B12-tekort het zenuwstelsel niet beschermt. Foliumzuur en citrovorum factor heffen, althans tijdelijk, de verschijnselen van gebrek aan vitamine B12, die de haematopoiese betreffen, op.

Foliumzuur en thymine beïnvloeden de haematologische aspecten van een deficiëntie van vitamine B12 door hun invloed op de DNA-stofwisseling, maar de stoornis in de RNA-synthese in de zenuwcel gaat door (zie fig. 8).



Figuur 8.

De enige laesie in het zenuwstelsel, die bij foliumzuurgebrek is beschreven, is hydrocephalus bij de embryonale rat 27). Deze afwijking vindt men echter bij embryonen, waarbij nog wel celdelingen in het zenuwstelsel optreden.

Bovenstaande opvatting, die door ons naar voren werd gebracht 28, 29, 30), vindt steun in de studie van ALEXANDER en BACKLA 31). Deze toonden een correlatie bij ratten aan tussen het RNA-gehalte van zenuwcellen en de toevoer van vitamine B12 met het dieet.

Een korte beschouwing over de neurologische afwijkingen bij perniciëuse anaemie is hier op zijn plaats. Voor een uitgebreid overzicht zij verwezen naar de dissertatie van KOEK 32).

WINTROBE 33) zegt, dat weinig bekend is over de pathogenese van de gecombineerde strengaandoening. Onder de moderne auteurs is UNGLEY 34) de meest op de voorgrond tredende aanhanger van de theorie, dat toxische factoren een hoofdrol spelen. Als mogelijke toxische factoren noemt hij naast indol tyrosine en producten van incomplete afbraak van "tyrosylbodies". De bloedspiegel van tyrosine werd bij een aantal van onze patiënten bestudeerd, waarbij ook de "tyrosylbodies" mee bepaald werden. Er werd geen significant verschil met normale personen gevonden (VEGTER en NIEWEG 35).

HAENEL 36) zag in een stoornis in de RNA-stofwisseling de oorzaak van de neurologische afwijkingen.

Over het algemeen wordt de nadruk gelegd op de laesies van de substantia alba bij de perniciëuse anaemie. In de zeer uitvoerige morphologische studies in de oudere Duitse literatuur (WEIMANN 37), WOHLWILL 38)) vindt men beschrijvingen van veranderingen in de ganglioncellen, waarbij opvalt een verdwijnen van de NISSL-substantie. Hierin is het cytoplasma-RNA van de zenuwcel gelocaliseerd.

Uit het klassieke werk van CASPERSSON en zijn medewerkers blijkt een duidelijk verband tussen de eiwitsynthese en de RNA-concentratie in de cel, zoals reeds is vermeld 13). Deze relatie bestaat ook in de zenuwcel (HYDEN). Na doorsnijding van een axon namen HYDEN en GERSH en BODIAN 39, 40) een vermindering van de hoeveelheid RNA waar. Het bleek BODIAN, dat deze afname omgekeerd evenredig is met de afstand van het perikaryon tot de plaats van doorsnijding. Deze onderzoeker stelde de hypothese op, dat de nucleïnezuurstofwisseling in het cellichaam nodig is om het uitgroeijsel van de cel, het axon, in stand te houden. Men schat, dat de totale massa van het axon voor sommige neuronen ongeveer 1000 x die van het perikaryon is. WEISS 41) toonde bovendien aan, dat er een voortdurende centrifugale stroom van cytoplasma-materiaal langs het axon bestaat.

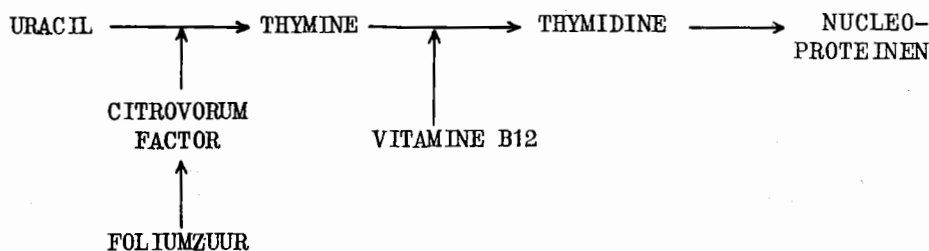
De hypothese van BODIAN geeft mogelijk een verklaring voor een typisch kenmerk van de neurologische laesies bij perniciëuse anaemie. Als het RNA-mechanisme voor de eiwitsynthese, nodig voor de integriteit van het axon, wordt aangetast door vitamine B12-gebrek, zal dit het eerst tot uiting komen in die cellen, waarin van dit mechanisme het meest wordt geeist. Dit zijn de cellen met de langste axonen. Nu hebben VAN DER SCHEER en KOEK 42) erop gewezen, dat bij perniciëuse anaemie afwijkingen het eerst optreden in de langste axonen. In het eerste stadium vindt men laesies van de perifere zenuwen, die het klinische beeld van de polyneuritis geven. Gaat de aandoening van het zenuwstelsel verder, dan ontstaat het beeld van de gecombineerde strengaandoening. Deze berust op een aantasting van de banen met de langste axonen in het centrale zenuwstelsel, nl. de achterstrengen en de pyramidebanen. NONNE en FRUND 43) merkten op, dat in de achterstrengen de delen, die tegen de substantia

grisea aanliggen niet of nauwelijks aangedaan zijn. Deze betrekkelijk immune neuronen hebben de kortste axonen in deze banen.

Indien men vasthoudt aan de theorie, die centrale betekenis aan de RNA toekent bij het ontstaan van de funiculaire myelose, moeten de haarden in de substantia alba, de laesies dus, die morphologisch het meest op de voorgrond staan, als secundair worden beschouwd. In dit verband is het wenselijk te wijzen op de waarneming van BERK, DENNY BROWN, FINLAND en CASTLE <sup>44</sup>), dat neurologische afwijkingen, die slechts kort bestaan hebben, snel praktisch geheel kunnen verdwijnen na vitamine B12-therapie, zodat zij dachten aan een "rapidly reversible biochemical lesion", voorafgaande aan "structural degeneration".

Na deze beschouwingen over de betekenis van de gestoorde nucleïnezuursynthese in de pathogenese van megaloblastaire anaemieën zal worden nagegaan, of de microbiologische research-techniek de klinici ook aanwijzingen geeft over de aangrijpingspunten van foliumzuur en vitamine B12.

De *Lactobacillus leichmannii* kan bij gebrek aan vitamine B12 thymidine gebruiken voor de groei. Bij de *Lactobacillus casei* kan thymine foliumzuur vervangen in het medium. VILTER en zijn medewerkers werkten deze gegevens in een voorlopige theorie uit (zie fig. 9). Volgens hen zou bij foliumzuurgebrek



Vrij naar VILTER c.s., Blood 5-695-1950.

Figuur 9.

de thyminesynthese, bij vitamine B12-gebrek de opbouw van thymidine gestoord zijn. In gevallen van vitamine B12-deficientie zou de vorming van thymidine in het beenmerg nog in voldoende mate plaats kunnen vinden door een massawerking van thymine. De overmaat thymine zal gevormd worden in de cel, wanneer grote hoeveelheden foliumzuur beschikbaar komen door foliumzuurtherapie. De thymine kan ook direct aan de patiënt gegeven worden. In beide gevallen zal bij vitamine B12-deficientie de vorming van DNA nog in voldoende mate plaats kunnen vinden.

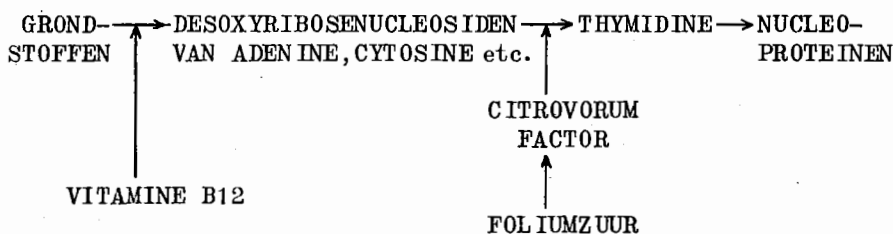
In gevallen van megaloblastaire anaemie door gebrek aan



foliumzuur schiet de productie van thymine tekort. Het is volgens deze theorie gemakkelijk in te zien, dat vitamine B12 dan geen effect zal hebben, omdat immers het substraat van de vitamine B12-werking ontbreekt.

Deze theorie geeft ons dus een inzicht in de klinische waarnemingen, dat bij patiënten met vitamine B12-gebrek foliumzuur en vitamine B12 beide actief zijn, terwijl vitamine B12 niet werkt bij lijders met een tekort aan foliumzuur. VILTER c.s. achten het waarschijnlijk, dat vitamine B12 zijn invloed op het zenuwstelsel dankt aan een enzymwerking in een ander syntheseproces.

Naderhand is een ander schema voor de relatie tussen vitamine B12, foliumzuur, thymine etc. door JUKES, BROQUIST en STOKSTAD opgesteld. Dit is gebaseerd op meer uitgebreide microbiologische onderzoeken. Volgens deze theorie, weergegeven in fig. 10, heeft foliumzuur invloed alléén op de



Vrij naar JUKES c.s., Arch. Biochem., 26-157-1950.

Figuur 10.

vorming van thymidine uit andere desoxyribosenucleosiden. Deze laatste nucleosiden ontstaan onder invloed van een enzym, dat vitamine B12 als coenzym bevat <sup>45)</sup>.

Voor de kliniek heeft dit schema veel aantrekkelijks. Immers de werking van foliumzuur is volgens deze theorie beperkt tot de vorming van thymidine, een bouwsteen alléén van DNA, terwijl vitamine B12 de synthese ook van andere nucleosiden beïnvloedt. Het is op grond van het werk van STERN c.s. waarschijnlijk geoorloofd het schema van JUKES en de zijnen te wijzigen door aan te nemen, dat niet alleen desoxyribose, maar ook ribose bevattende nucleosiden worden geproduceerd onder invloed van vitamine B12.

Met deze gemodificeerde theorie kan men verklaren, dat vitamine B12 zowel op het zenuwstelsel als op het beenmerg werkt, terwijl foliumzuur alleen effect heeft op het beenmerg.

Een ander verschilpunt tussen de opvatting van JUKES, BROQUIST en STOKSTAD en die van VILTER c.s. is, dat we nu de werking van thymine bij megaloblastaire anaemieën verkla-

ren door aan te nemen, dat het een eindproduct is van een syntheseproces, waarvoor in een bepaald stadium vitamine B12 en in een ander stadium foliumzuur nodig is. VILTER daarentegen neemt aan, dat thymine actief is omdat door een massawerking van de grote hoeveelheid substraat de reactie, die geremd wordt door vitamine B12-gebrek, nog op voldoende snelheid doorgaat.

Stellen wij ons op het standpunt van VILTER van de massawerking van het substraat, dan is moeilijk in te zien, waarom bij een geval van megaloblastaire zwangerschapsanaemie uracil niet actief bleek, terwijl thymine wel een genezende werking had, zoals VILTER c.s. zelf beschreven. In hetzelfde artikel worden waarnemingen gerapporteerd over de verbetering, die uracil bij genuiene perniciëuse anaemie teweeg brengt. Deze moeilijkheid hebben de auteurs opgelost door aan te nemen, dat bij megaloblastaire zwangerschapsanaemie, die in hun ervaring alléén op foliumzuur reageert, geen foliumzuur-gebrek bestaat, maar een deficiëntie van een derde factor.

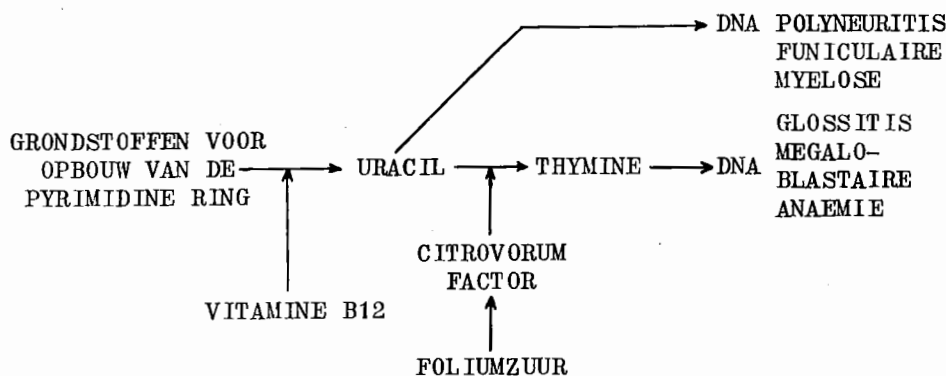
Uitgaande van de theorie, dat thymine, thymidine en uracil klinisch werkzaam zijn, omdat het producten zijn van de reacties, die geremd worden bij megaloblastaire anaemieën, is dit verschil in werkzaamheid bij de naar onze ervaring op foliumzuurgebrek berustende vitamine B12-refractaire vorm van zwangerschapsanaemie op eenvoudiger wijze te verklaren. Indien men aanneemt, dat de pyrimidine-ring van uracil en thymine gesynthetiseerd wordt onder invloed van vitamine B12, kan bij gebrek aan vitamine B12 het hierdoor ontstane tekort aan deze bouwstenen van de nucleïnezuren aangevuld worden door één van deze substanties toe te dienen. Bij een deficiëntie van foliumzuur wordt de vorming van thymine (5-methyluracil) door methylering van uracil geremd. In dat geval is thymine, zoals te verwachten is, actief. De omzetting van uracil, zelfs indien dit in overmaat wordt aangeboden, is onvoldoende, als wij aannemen, dat de werkzaamheid van pyrimidinebasen in de kliniek, evenals in het microbiologisch experiment, erop berust, dat zij het product zijn van een reactie, die gekatalyseerd wordt door enzymen, die foliumzuur en vitamine B12 als coenzymen bevatten.

Hiermee in overeenstemming is de klinische waarneming, dat vitamine B12-therapie geen effect heeft bij lijders aan een foliumzuurdeficiëntie. Zelfs al zou extra uracil gevormd worden, dan nog wordt de snelheid van het methyleringsproces niet zodanig opgevoerd, dat voldaan wordt aan de behoeften voor een normale DNA-synthese.

Indien wij de gemodificeerde theorie van JUKES c.s. aannemen, zal bij de met foliumzuur behandelde lijder aan anaemia perniciosa het volgende gebeuren: van de in totaal gevormde hoeveelheid pyrimidinebase wordt door de overmaat foliumzuur de DNA-synthese op gang gehouden, waardoor minder beschikbaar komt van het toch al onvoldoende quantum pyrimidinebase voor de vorming van RNA. Hieraan moet o.i. het

snelle optreden en de snelle progressie van een reeds bestaande funiculare myelose bij de alleen met foliumzuur behandelde patiënt worden toegeschreven. Dit verschijnsel is nl. soms zo uitgesproken, dat het sommige klinici deed denken aan een toxische werking van het foliumzuur 46).

In fig. 11 is een poging gedaan de relatie tussen de



Figuur 11.

verschillende stoffen, die therapeutisch werkzaam zijn bij megaloblastaire anaemieën, in een schema weer te geven. Hierbij is buiten beschouwing gelaten de vraag, of de sluiting van de pyrimidine-ring voor dan wel na de binding aan de pentose plaats vindt. Verder moet afgewacht worden, wat het effect van uracil op de gecombineerde strengaandoening is. Daarom heeft dit schema ongetwijfeld een voorlopig karakter.

## LITERATUUR

1. E.L.R. Stokstad:  
J. Biol. Chem. 139 - 475 - 1941.
2. J.L. Stokes:  
J. Bact. 48 - 201 - 1944.
3. L.D. Wright, H.R. Skeggs en J.W. Huff:  
J. Biol. Chem. 175 - 475 - 1948.
4. R.W. Vilter, D. Horrigan, J.F. Mueller, T. Jarrold,  
C.F. Vilter, V. Hawkins en A. Seaman:  
Blood, J. Hematol. 5 - 695 - 1950.
5. T.D. Spies, C.F. Vilter, J.K. Cline en W.B. Frommeyer:  
South. Med. J. 39 - 269 - 1946.
6. T.D. Spies, W.B. Frommeyer, C.F. Vilter en A. English:  
Blood, J. Hematol. 1 - 185 - 1946.
7. T.D. Spies en R.E. Stone:  
Lancet 1 - 174 - 1946.

8. P. Petrides:  
Deutsch. Arch. Klin. Med. 194 - 661 - 1949.
9. C.C. Ungley:  
Lancet 1 - 164 - 1949.
10. E.H. Reisner en R. West:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 71 - 651 - 1949.
11. J.A.G. ten Berg, A.H. van Ravesteyn, J.P.E. Sperna  
Weiland, A. Brester, J. Lens en S.J. Geerts:  
N.T.v.G. 93 - 2230 - 1949.
12. K. Hausmann:  
Lancet 1 - 329 - 1951.
13. T.O. Caspersson:  
Cell growth and cell function. New York, 1950.
14. B. Thorell:  
Studies on the formation of cellular substances  
during bloodcell production. Londen, 1947.
15. K. Rohr:  
Das menschliche Knochenmark. Stuttgart, 1949.
16. A. Boivin, R. Vendrely en C. Vendrely:  
C.R. Acad. Sci. 226 - 1061 - 1948.
17. H.H. Swift:  
Anat. Rec. 105 - 17 - 1949.
18. J.F. Mueller, H.S. Glazer en R.W. Vilter:  
J. Clin. Invest. 31 - 651 - 1952.
19. J.L. Bernier:  
J. Am. Dent. Ass. 34 - 647 - 1949.
20. J.R. Stern, M. Wight Taylor en W.C. Russel:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 70 - 551 - 1949.
21. P. Dustin:  
Rev. d'Hémat. 5 - 603 - 1950.
22. E.E. Snell en W.W. Cravens:  
Arch. Bioch. 24 - 224 - 1949.
24. A.Z. Hodson:  
Arch. Bioch. 21 - 830 - 1949.
25. W.H. Prusoff, L.J. Teply en C.G. King:  
J. Biol. Chem. 176 - 1309 - 1948.
26. H. Hydén:  
Symp. Soc. Exp. Biol. 1 - 152 - 1947.
27. B.L. O'Dell, J.R. Whitley en A.G. Hogan:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 69 - 272 - 1949.
28. H.O. Nieweg, F.S.P. van Buchem en W.F. Stenfert Kroese:  
Verslagen Ned.Ver.v.Haematologie, N.T.v.G. 95 -  
3540 - 1951.
29. H.O. Nieweg:  
Verslagen Ned.Ver.v.Haematologie, N.T.v.G. 96 -  
1298 - 1952.
30. H.O. Nieweg, F.S.P. van Buchem en W.F. Stenfert Kroese:  
Act. Med. Scand. 142 - 45 - 1952.
31. W.F. Alexander en B. Backlar:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78 - 181 - 1951.
32. H.C. Koek:  
Proefschrift. Groningen, 1948.

33. M.M. Wintrobe:  
Clinical Hematology. Philadelphia, 1951.
34. C.C. Ungley:  
Proc. Roy Soc. Med. 43 - 537 - 1950.
35. J.J.M. Vegter en H.O. Nieweg:  
Wordt gepubliceerd.
36. U. Haenel:  
Helv. Med. Acta 17 - 627 - 1950.
37. W. Weimann:  
Z.f.d.ges. Neurol. u. Psych. 92 - 433 - 1924.
38. F. Wohlwill:  
Z.f.d.ges. Neurol. u. Psych. 8 - 293 - 1912.
39. I. Gersh en D. Bodian:  
J. Cell. Comp. Physiol. 21 - 253 - 1943.
40. D. Bodian:  
Symp. Soc. Exp. Biol. 1 - 163 - 1947.
41. P. Weiss en H.B. Hiscoe:  
J. Exp. Zoöl. 107 - 315 - 1948.
42. W.M. van der Scheer en H.C. Koek:  
Acta Psych. et Neurol. 13 - 61 - 1938.
43. M. Nonne en F. Frund:  
Deutsche Z.f. Nervenheilk. 35 - 102 - 1908.
44. L. Berk, D. Denny Brown, M. Finland en W.B. Castle:  
New Engl. J. Med. 239 - 328 - 1948.
45. T.H. Jukes, H.P. Broquist en E.L.R. Stokstad:  
Arch. Bioch. 26 - 157 - 1950.
46. J.F. Ross, H. Belding en B.L. Paegel:  
Blood, J.Hematol. 3 - 68 - 1948.

## HOOFDSTUK V

### Erythroblastische anaemie, een manifestatie van foliumzuur-gebrek

Lijders aan spruw zijn meestal anaemisch. Deze anaemie is soms hyperchroom maar kan ook hypochroom zijn, wanneer ijzergebrek het beeld beheerst. Een minder frequente vorm van anaemie bij spruw is de erythroblastische anaemie (erythroblastic anaemia), die in 1932 voor het eerst werd beschreven door BENNETT, VAUGHAN en HUNTER <sup>1)</sup>. Karakteristiek voor dit beeld is het voorkomen van HOWELL-JOLLY-lichaampjes en normoblasten in het periphere bloed. Deze normoblasten zijn orthochromatisch en hebben sterk pyknotische kernen. VAN BUCHEM <sup>2, 3, 4, 5)</sup> heeft er op gewezen, dat dit kenmerk van essentieel belang is voor de differentiele diagnostiek ten opzichte van die vormen van anaemie, waarbij compensatoir een extra-ossale bloedaanmaak optreedt. Dan zijn nl. de jonge rode cellen polychromatisch of basophiel. Bij de erythroblastische anaemie daarentegen vindt men geen tekenen van een versterkte erythropoiese, het aantal reticulocyten is meestal normaal.

Bij deze anaemie namen HIRSCHFELD en DÜNNER <sup>6)</sup> atrophie van de milt waar. Door andere auteurs is deze associatie ook gevonden. HIRSCHFELD en DÜNNER namen een causaal verband aan tussen de atrophie van de milt en het bloedbeeld bij deze patiënten. Zij wezen er op, dat na splenectomie, althans tijdelijk, soortgelijke veranderingen in het periphere bloed optreden.

In ons land werd dit type anaemie beschreven door GOUDSMIT <sup>7)</sup>, VAN HEES <sup>8)</sup>, TERMOTE <sup>9)</sup> en, zoals reeds is vermeld, door VAN BUCHEM.

Deze studie behandelt vijf gevallen waarbij door obductie <sup>\*)</sup> atrophie van de milt werd aangetoond.

De gegevens van deze vijf patiënten worden samengevat in tabel 13. In de eerste plaats moet er nog eens op gewezen worden, dat bij nauwkeurig onderzoek géén haarden van extra-ossale bloedaanmaak waren te vinden in de lever.

Bij vier van de vijf patiënten werd tijdens het leven steatorrhoe vastgesteld. De vierde patiënt overleed aan chronische glomerulonephritis. Bij hem was als therapie ge-

---

\*) De obducties werden verricht in het Laboratorium voor Pathologische Anatomie (directeur Prof. Dr. J. J. Th. VOS) door Dr. A. ARENDS, Dr. H. N. HADDERS en Dr. Th. G. VAN RIJSEL. De klinische gegevens zijn gedeeltelijk ter beschikking gesteld door Dr. C. A. GRAAFLAND en Dr. C. VAN OVEN.

TABEL 13

	Sexe	Leeftijd	Duur van de ziekte	Vetgehalte van de faeces uitgedrukt in % v.d. droogrest	Periphere bloedbeeld	Beenmerg	Obductie
1.	♂	58	± 3 jaar	37-54%	Macrocytair. Howell-Jolly-lichaampjes. Orthochromatische erythroblasten. Leucopenie.	Megaloblasten. Reuzenstaven. Refractair tegen gezuiverd leverextract.	Milt 10 gr
2.	♀	47	1½ jaar	37%	Macrocytair. Howell-Jolly-lichaampjes, vele. Leucopenie. Thrombopenie.	Hypoplastisch.	Milt 14 gr
3.	♀	57	6 jaar	60%	Macrocytaire anaemie. Howell-Jolly-lichaampjes. Orthochromatische erythroblasten. Leucopenie.	Hypoplastisch.	Milt 15 gr Bronchitis Pyelonephr
4.	♂	18	1 jaar, gedurende 1 jr. behandeld met eiwitarm dieet.		Orthochromatische erythroblasten.		Milt 10 gr Chronische glomerulonephritis.
5.	♂	36	1 jaar	51%	Macrocytaire anaemie. Leucopenie. Orthochromatische erythroblasten. Howell-Jolly-lichaampjes.	Hyperplastisch megaloblastair. Reuzenstaven. Vermeerdering v.h. aantal orthochromatische kernhoudende cellen.	Milt 12 gr

durende één jaar een eiwitarm dieet toegepast. Het vijfde geval werd klinisch uitvoerig bestudeerd. De hierdoor verkregen gegevens zullen beneden meegedeeld worden.

Een analyse van de erythroblastische anaemie stelt ons voor de vraag naar de betekenis van de milt voor het organisme. "The mystery with which Galen shrouded the spleen more than seventeen hundred years ago is not yet fully penetrated" zo begon LEARMONTH zijn "Lecture to the Harveian Society" in 1951 <sup>10)</sup>. Hoewel men dus weinig definitiefs over de miltfunctie kan zeggen, zijn er toch wel aanwijzingen voor een humorale invloed van de milt en de rest van het reticulo-endotheliale systeem op het beenmerg. VAN BUCHEM legde een verband tussen de milt en de ont kerning van de erythrocyten.

Een ander punt van bespreking moet zijn de oorzaak van de atrophie van de milt. Reeds in 1921 beschreef MC.CARRISON <sup>11)</sup> avitaminose als een oorzaak van milt-atrophie bij proefdieren. Ook DE VRIES <sup>12)</sup> denkt in deze richting, zonder dat de aard van de deficientie nader wordt gedefinieerd. Dat een deficientie de oorzaak van de miltatrophie is, wordt wel aannemelijk gemaakt door de waarneming, dat het syndroom niet alleen bij spruw, maar ook na een éénzijdig dieet, zoals in geval vier, kan voorkomen.

Op de relatie tussen deficientie en miltatrophie werd nieuw licht geworpen door ASENJO <sup>13)</sup>. Hij gaf ratten een foliumzuur-arm dieet, dat een sulphonamide bevatte. Deze dieren kregen de bekende laesies: leucopenie, haaruitval, diarrhoe en afwijkingen van het mondslijmvlies. Bovendien ontstond atrophie van de milt, die soms ook necrotische haarden vertoonde. Indien een kleine, inadaequate hoeveelheid foliumzuur aan het dieet werd toegevoegd, bleven de dieren langer in leven en was de miltatrophie meer geprononceerd.

Bij patiënt vijf is het effect van foliumzuur op het bloedbeeld bestudeerd.

#### Ziektegeschiedenis

H.V., een man van 34 jaar, stond bekend als lijder aan chronische, fibrotische, bronchiectatische longtuberculose, waarvoor hij sedert ongeveer een jaar werd behandeld. Zijn algemene toestand ging steeds achteruit, hetgeen niet verklaard kon worden door de longafwijkingen. Daarom werd hij naar ons verwezen voor een volledig intern onderzoek.

Patiënt klaagde over anorexie en vermagering. Bij lichamelijk onderzoek werden behalve de longafwijkingen een zeer slechte voedingstoestand en anaemie gevonden. Laboratoriumonderzoek: Hb. 9,9 g%, erythroc. 3.230.000., leucoc. 4300, reticuloc. 50%, thromboc. (methode VAN HERWERDEN) 600.000, diff.: eos. leuc. 4, staafk.leuc. 10, segmentk. 40, lymphoc. 22, monoc. 24, 14 orthochromatische normoblasten per 100 leucoc. en vele HOWELL-JOLLY-lichaampjes werden gezien. Serumijzer 129 γ%. Bilirubine: direct neg., quant. 2 E. Onderzoek van het beenmerg bracht een toename van het aantal orthochromatische normoblasten aan het licht; ook werden megaloblasten en reuzenmetamyelocyten gevonden.

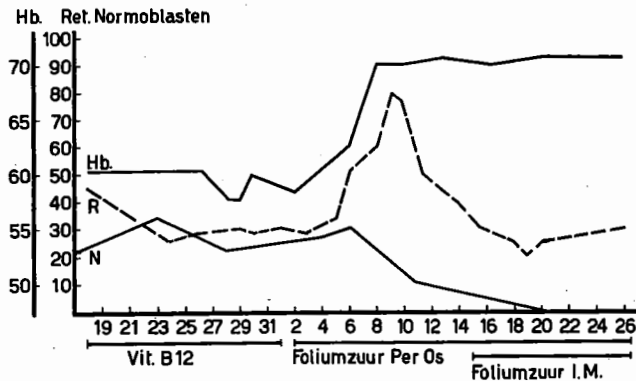
Verder onderzoek toonde het bestaan van een resorptiedefect aan: Vitamine A-curve: nachter 4 I.E./10 ml., na 3 uur 23 I.E./10 ml., 6 uur 48 I.E./10 ml., 9 uur 19 I.E./10 ml. Faeces: totaal vet 51% van de droogrest, vetzuren 41%, zepen 37%, neutraal vet 22%.

Wij stelden de diagnose op inheemse spruw met erythroblastische anaemie ten gevolge van miltatrophie en megaloblastaire haematopoïese.



De behandeling bestond uit een dieet, ondersteund door vitamine B12 (15 γ per dag i.m.). Dit had totaal geen effect. Hiermee in overeenstemming was het feit, dat de vitamine B12-spiegel in het serum vóór de behandeling aan de hoge kant bleek te zijn (0,95 mγ per ml.). Een uitstrijkpraeparaat van het beenmerg op de 14<sup>de</sup> dag gemaakt, vertoonde nog hetzelfde megaloblastaire beeld (fig. no. 13). Gedurende deze periode ontwikkelde zich glossitis en diarrhoe. De vitamine B12-toediening werd daarom gestaakt en patiënt kreeg per dag 30 mg. foliumzuur per os. Hierna trad een stijging op van het aantal reticuloc. met een maximum van 8% op de zevende dag (zie fig. no. 12). Ook het Hb en het aantal erythrocyt. namen toe. Het meest opmerkelijke echter was het volledig verdwijnen van de orthochromatische normoblasten uit het perifere bloed. De HOWELL-JOLLY-lichaampjes werden kleiner en vielen uit één (zie fig. no. 13).

In het begin trad een lichte klinische verbetering op, maar daarna ging de algemene toestand van de patiënt toch geleidelijk aan achteruit. Er ontwikkelde zich



Figuur 12

gegeneraliseerd, hypoalbuminaemisch oedeem met ascites, de diarrhoe verergerde. Patiënt succombeerde icterisch in een toestand van sterke cachexie, 6 weken na het begin van de foliumzuurtherapie, die later was ondersteund door albumineinfusen.

Samenvatting van de bij de sectie (Dr. H.N. HADDERS) gevonden afwijkingen (3 uur post mortem): Uiterst cachectische man, 1,77 m. lang, gewicht 37 kg.

Longen: chronische, induratieve, verkazende tuberculose met twee kleine hollen in de bovenkwabben.

Lever: vergroot, gewicht 1,765 kg., op doorsnede gele kleur. Histologisch: vettige degeneratie met bindweefselvorming.

Milt: zeer klein, gewicht 12 g., afmetingen 5 x 3 x 2 cm. (fig. 13). Histologisch: bijna volledige verdwijning van de rode pulpa.

Testes: klein. Microscopisch was extreme atrophie van de tubuli te zien (fig. 13).

Darmkanaal: de mucosa van de dunne darm vertoonde een verlies van het normale slijmvliespatroon. Bij microscopisch onderzoek werd uitgesproken atrophie van het epitheel gevonden met verdwijnen van de villi en talrijke kleine ulceraties (fig. 13). Er bevond zich geen met Soedan III kleurbaar vet in de mucosa en er waren ook geen schuimcellen aanwezig.

Mesenteriale lymphklieren: bij onderzoek van een pakket lymphklieren (ongeveer 5 cm. in diameter) werd op doorsnede geel materiaal gevonden, dat gedeeltelijk verweekt was. Microscopisch onderzoek: het normale lymphatische weefsel bleek verdwenen te zijn. De hoofdbestanddelen waren grote schuimcellen, beladen met vet (Soedan III - positief). Deze veranderingen in de mesenteriale lymphklieren zijn identiek met die beschreven bij de ziekte van WHIPPLE. In het slijmvlies van de dunne darm werden echter geen schuimcellen gevonden.

We hebben hier te doen met een geval van steatorrhoe, erythroblastische anaemie bij miltatrophie, vettige degeneratie van de lever met fibrose en waarschijnlijk de ziekte van WHIPPLE.

Bij deze man met erythroblastische anaemie werd bij de obductie een kleine milt gevonden. Dat hij gebrek aan foliumzuur had, is wel waarschijnlijk op grond van de megaloblastaire anaemie, die resistent was tegen vitamine B12, maar verbeterde op foliumzuurtherapie.

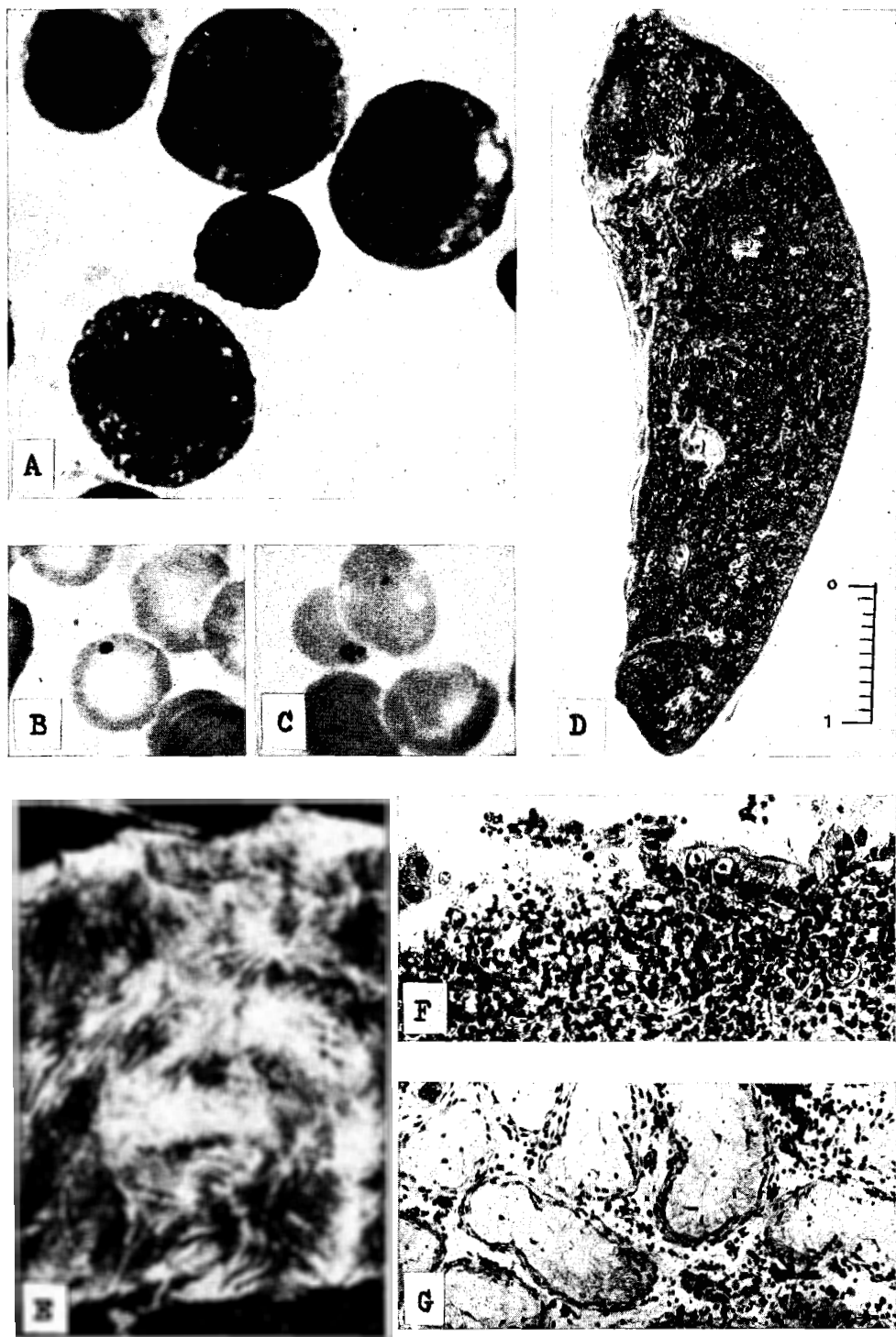


Fig. 13 Afwijkingen bij een man met foliumzuurgebrek:

A. megaloblasten in beenmerguitstrijk, gemaakt 14 dagen na het begin van de behandeling met vitamine B12

B. HOWELL-JOLLY-lichaampjes vóór de foliumzuurtoediening

C. uitéénvallen van de HOWELL-JOLLY-lichaampjes na het begin van de foliumzuurtherapie

D. de milt op doorsnede E. het atrophische dunne darmslijmvlies

F. hoogvergroete darmklieren met atrofische darmklieren



Na de toediening van foliumzuur verdwenen de orthochromatische normoblasten uit het periphere bloed en vertoonden de HOWELL-JOLLY-lichaampjes opvallende veranderingen: fragmentatie en afname in grootte. Aangezien de erythroblastose een klinische manifestatie van miltatrophie is, is hierdoor een invloed van foliumzuur op de milt en misschien op het hele reticulo-endotheliale systeem wel aannemelijk geworden. De patiënt overleed cachectisch in coma hepaticum. Hierdoor was de duur van de foliumzuurbehandeling waarschijnlijk te kort voor een restitutio ad integrum van de milt.

VAN HEES beschreef in zijn proefschrift enige gevallen van erythroblastische anaemie met megaloblastair beenmerg, waarbij pernaemon géén effect had.

Foliumzuur is bij deze vorm van anaemie toegepast door WALDENSTROM<sup>14)</sup>, die hierop een subjectieve verbetering zag. Er volgden geen veranderingen in het Hb en het aantal erythrocyten. Het serumijzer daalde echter van 60 tot 32  $\gamma\%$ . Ook TERMOTE nam geen duidelijk effect van foliumzuur waar. Na foliumzuur en pernaemon crudum waren in dit geval van TERMOTE géén megaloblasten meer in het beenmerg te vinden. WALDENSTROM en TERMOTE beschrijven niet nauwkeurig het periphere bloed.

O.i. is het dus waarschijnlijk, dat foliumzuurgebrek ook bij de mens kan leiden tot atrophie van de milt. Soms wordt echter bij een deficientie van foliumzuur juist een grote milt gevonden, zoals bij de megaloblastaire zwangerschapsanaemie. Kenmerkend voor deze ziekte is de korte duur, terwijl verschijnselen van versterkte bloedaafbraak vaak opvallend zijn. Bij de beschreven patiënten met erythroblastische anaemie waren er geen duidelijke tekenen van haemolyse. Vermoedelijk is de tijdsfactor van grote betekenis voor het ontstaan van miltatrophie, zoals ook naar voren komt in het werk van ASENJO.

In hoofdstuk IV werd er reeds op gewezen, dat foliumzuur een rol speelt bij de kerndeling en dat een gebrek aan dit vitamine zich dientengevolge vooral manifesteert in de organen, die door een intensieve celaanmaak gekarakteriseerd zijn. Deze zijn ook gekenmerkt door gevoeligheid voor bestraling. Naast laesies van beenmerg en darmkanaal werd door VORDER BRUEGGE<sup>15)</sup> miltatrophie gevonden bij slachtoffers van de atoombomexplosies in Japan.

De cytopoietische werking van foliumzuur is in verband gebracht met de DNA-stofwisseling. Het is daarom in dit verband gewenst de onderzoeken van HEVESY en OTTESEN (1943) en ANDREASEN en OTTESEN (1945) aan te halen. Deze onderzoekers gingen met behulp van P32 de dagelijkse vervanging ("turnover") van DNA P na in verschillende organen: voor het darmkanaal was de uitkomst 15%, voor de milt 5,8% en voor de testes 2,6%.

Het ligt daarom voor de hand de atrophie van de milt toe te schrijven aan een regeneratiestoornis berustend op een

tekort schieten van de DNA-synthese door chronisch foliumzuurgebrek.

De vraag doet zich voor, of een deficiëntie van vitamine B12 onder bepaalde omstandigheden een soortgelijk beeld kan veroorzaken. Een definitief antwoord is nog niet te geven, maar het moet niet onmogelijk geacht worden. ZUCKER c.s. 18) zeggen in een beschrijving van ratten met een "zoöpherin"-gebrek: "The spleen appears remarkably shrunken". Zoöpherin is een Animal Protein Factor-praeparaat. Vermoedelijk is vitamine B12 dus wel van betekenis bij deze proeven van ZUCKER. Misschien mag men de kleine milt bij patiënt vier met zijn dieet, arm aan dierlijk eiwit, hiermee in verband brengen.

Voor zover mij bekend, zijn de tot nu toe behandelde gevallen van erythroblastische anaemie met megaloblastair merg alle refractair gebleken tegen gezuiverde leverextracten en vitamine B12. Meestal zal dus chronisch foliumzuurgebrek wel de causale factor zijn bij de genese van de erythroblastische anaemie ten gevolge van miltatrofie 19).

#### LITERATUUR

1. T.I. Bennett, D. Hunter en J.M. Vaughan:  
Quart. J. Med. 1 - 603 - 1932.
2. F.S.P. van Buchem:  
Acta Med. Scand. 97 - 596 - 1938.
3. F.S.P. van Buchem en D.J.J.M. Hendriksen:  
Acta Med. Scand. 102 - 243 - 1939.
4. F.S.P. van Buchem:  
Z.f. klin. Med. 135 - 95 - 1938.
5. F.S.P. van Buchem en Th. Botman:  
Brit. J. Dermat. Syphilis 52 - 304 - 1940.
6. H. Hirschfeld en L. Dünner:  
Z.f. klin. Med. 125 - 536 - 1933.
7. J. Goudsmit:  
N.T.v.G. 77 - 5582 - 1933.
8. C.A. van Hees:  
Proefschrift. Leiden, 1937.
9. U.A. Termote:  
Voordracht Ned. Ver. v. Haematol., Oct. 1951.  
N.T.v.G. 96 - 1297 - 1952.
10. J.R. Learmonth:  
Brit. Med. J. 2 - 67 - 1951.
11. R. McCarrison:  
Studies in deficiency disease. Londen, 1921.
12. S.I. de Vries:  
Leerboek der Bloedziekten, Deel II. Amsterdam, 1947.
13. C.F. Asenjo:  
J. Nutrition 36 - 601 - 1948.
14. J. Waldenström:  
Blood, J. Hematol. 2 - 426 - 1947.

15. C.F. Vorder Bruegge:  
Ann. Int. Med. 36 - 1444 - 1952.
16. G. Hevesy en J. Ottesen:  
Acta Physiol. Scand. 5 - 237 - 1943.
17. E. Andreassen en J. Ottesen:  
Acta Physiol. Scand. 10 - 258 - 1945.
18. L.M. Zucker, Th. Zucker, V. Babcock en P. Hollister:  
Arch. Biochem. 16 - 115 - 1948.
19. H.O. Nieweg en A. Arends:  
Blood, J. Hematol. 8 - 175 - 1953.

## HOOFDSTUK VI

### Enige opmerkingen over de betekenis van gebrek aan foliumzuur en vitamine B12 bij spruw

Spruw is gekarakteriseerd door gestoorde resorptie. Bij lijders aan deze ziekte kan men de meest uiteenlopende deficiëntie-verschijnselen aantreffen, zoals hypochrome of hyperchrome anaemie, osteoporose, bloedingen door hypoprothrombinaemie of vitamine C-gebrek, vettige degeneratie van de lever met secundaire fibrose <sup>1)</sup> en beri-beri.

Daarom ligt het voor de hand, dat verschillende gezaghebbende auteurs als LEITNER <sup>2)</sup>, DAVIDSON <sup>3)</sup> en FRAZER <sup>4, 5, 6, 7)</sup> de mening toegedaan zijn, dat manifestaties van gebrek aan vitamine B12 of foliumzuur een gevolg zijn van de stoornis in de resorptie.

Hiertegenover staat de mening van vele andere onderzoekers, waaronder onze landgenoot ELDERS <sup>8, 9)</sup>. ELDERS was van mening, dat de resorptiestoornis het gevolg van een deficiëntie is. Hij behandelde reeds 30 jaar geleden zijn patiënten met een dieet rijk aan vlees. CASTLE <sup>10)</sup>, die ook op dit gebied belangrijk werk gedaan heeft, stelde in een uitgebreide studie over spruw in West-Indië vast, dat toediening van leverextract niet alleen op de anaemie en de glossitis, maar ook op de diarrhoe genezende invloed heeft. De conclusie van CASTLE, RHOADS, LAWSON en PAYNE was dan ook, dat spruw berust op een tekort aan de "liverextract factor". GROEN <sup>11)</sup> nam eveneens waar, dat grote hoeveelheden leverextract, over lange perioden toegediend, de resorptie verbeteren, terwijl kleinere doses voldoende zijn om de megaloblastaire bloedaanmaak bij spruw te beïnvloeden.

Het is daarom van belang eens na te gaan, wat er bekend is van de invloed van foliumzuur en vitamine B12, factoren, die in leverextract voorkomen, op de resorptie.

Vitamine B12 is bij spruw toegepast. Bij tropische spruw zagen verschillende auteurs <sup>12, 13)</sup> en ook wijzelf een klinische en haematologische remissie optreden. De resorptie is bij deze gevallen niet bestudeerd met quantitatieve methoden. Ook bij inheemse spruw is dit, voor zover ons bekend, zelden gedaan. Bij vele lijders aan deze laatste ziekte bleek de megaloblastaire anaemie refractair te zijn tegen vitamine B12.

Meer gegevens zijn beschikbaar over de werking van foliumzuur. DAVIDSON en WEIR c.s. <sup>14)</sup> zagen bij inheemse spruw géén verbetering van de resorptie na foliumzuur. WOODRUFF <sup>15)</sup>, die tropische spruw gedurende 10-12 dagen met foliumzuur behandelde, zag hiervan ook géén effect op de resorptie.

Daartegenover moet vooral het werk van DARBY c.s. genoemd worden 16, 17, 18). Door deze auteurs werd aangetoond, dat de vitamine A-curve normaal werd na foliumzuurtherapie. Ook de glucosebelastingscurve werd normaal. In Havanna zagen BEGUERIE en SPIES 19), dat na enige maanden voortgezette foliumzuurtherapie het Röntgenbeeld van de dunne darm praktisch normaal werd bij spruw. Hieruit blijkt, dat foliumzuur bij spruw in West-Indië en het Zuiden van de Verenigde Staten de darmafwijkingen verbetert. Wel vermeldt DARBY, dat bij chronische vormen van spruw foliumzuur minder effectief is.

Bij coeliakie zagen TEGELAERS en WEYERS 20, 21), die de vetbepalingstechniek van VAN DE KAMER 22, 23) gebruikten, dat na foliumzuur een verbetering van de vetresorptie optrad. Eveneens aan deze kant van de Atlantische Oceaan observeerde BADENOCH 24) een aantal patiënten met inheemse spruw, die 9-12 maanden lang met foliumzuur en een dieet behandeld waren. Bij deze patiënten werd, met dezelfde techniek een belangrijke verbetering van de resorptie aangetoond. Zoals in Hoofdstuk I is meegedeeld, zagen wij soms ook een duidelijke verbetering van de resorptie optreden na foliumzuurtoediening bij inheemse spruw.

Er bestaat dus een duidelijk verschil van mening tussen de verschillende auteurs. Nu is het meestal zo, dat de pessimisten gelijk hebben, wanneer klinici twisten over de waarde van een medicament.

Ter verklaring van de controverse voert DAVIDSON aan, dat inheemse spruw (door hem aangeduid als idiopathische steatorrhoe) verschilt van de ziekte door de Amerikanen beschreven als spruw. De Amerikaanse auteurs als CASTLE, DARBY en SPIES werkten temidden van een bevolking met een voeding, die vaak op laag peil stond. DAVIDSON gelooft, dat de Amerikaanse patiënten lijden aan "nutritional macrocytic anaemia with secondary steatorrhea". Bij zijn Schotse patiënten daarentegen zou een "primary jejuno-ileal insufficiency with secondary deficiencies" op genetische bodem bestaan.

Het is van belang dit probleem nog eens aan een analyse te onderwerpen. Indien we ons nl. op het standpunt van ELDERS, CASTLE en DARBY moeten stellen, is het noodzakelijk om ieder geval van spruw, of er nu megaloblastaire anaemie bij is of niet, intensief lange tijd met foliumzuur, eventueel met vitamine B12 te behandelen. In dit verband zullen enkele waarnemingen naar voren worden gebracht bij patiënten met vitamine B12- en foliumzuurgebrek, die o.i. niet thuishoren in de categorie spruw, maar bij wie respectievelijk de diagnose perniciose anaemie en megaloblastaire zwangerschapsanaemie moet worden gesteld.

Bij deze patiënten werd aanvankelijk voor de differentiele diagnostiek het vetgehalte van de faeces bepaald, omdat volgens WINTROBE (1951), HEILMEYER (1951), DURANT en ZIBOLD



(1949) en VAN HEES (1937) bij pernicieuse anaemie geen steatorrhoe voorkomt.

De gebruikte techniek is die van PODA, zoals o.a. beschreven in het boek van HINSBERG en LANG <sup>29)</sup>. De bepaling werd verricht op een monster van verzamelde faeces over een periode van 3 dagen op SCHMIDT's dieet.

Om een bevestiging van de uitkomsten in tabel 14 te krij-

TABEL 14

Pernicieuse anaemie	17,7	Megaloblastaire	
	22	zwangerschapsnaaemie	29
	22,5		29
	23		31
	24		32
	25,5		41
	27		44,6
	27,8	Vóór behandeling	50
	28	Na behandeling	29
	30,7		
	32	Chlorosis tarda	31
	33		30,3
	33		30
	33,5		32,5
	33,6		15
	34,5		25,4
	34,6		
	36	Normale personen	30
	38		18
	39		21
	39		29
	40		29
	41		15
	42,8		23
	44		17
	45		27
	51		25,2
	56		24
	59		22
Vóór behandeling	39		
Na behandeling	28		
Vóór behandeling	40		
Na behandeling	33		

Percentage totaal vet van de droogrest van de faeces over een periode van 3 dagen op SCHMIDT's dieet

gen, werd bij een aantal patiënten met pernicieuse anaemie een vitamine A-belastingsproef met 600.000 I.E. vitamine A in olie uitgevoerd.

Deze bepalingen werden verricht in het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid te Utrecht volgens een modificatie van de methode aangegeven door VAN EEKELLEN, EMMERIE en WOLFF 30).

Bij enkele van deze patiënten steeg de vitamine A-spiegel minder dan men kon verwachten op grond van de ervaringen bij normale personen (zie tabel 15). Er is echter geen strik-

TABEL 15

Vitamine A.-belastingscurve (600.000 I.E. in olie)

		nuchter in I.E./10 ml.	na 3 uur	na 6 uur	na 9 uur
Pernicieuse anaemie	1.	6	27	11	14
	2.	9	24	45	17
	3.	9	36	48	18
	4.	-	44	37	21
	5.	6	50	40	12
	6.	9	50	50	25
	7.	10	60	30	18
	8.	76	90	45	25
	9.	10	98	50	30
	10.	10	28	153	90
	11.	10	17	153	38
	12.	7	221	150	50
	13.	9	200	150	90
	14.	9	142	227	142
	15.	12	260	270	90
	16.	10	260	373	180
Contrôle	1.	14	235	155	95
	2.	12	350	375	175
	3.	11	280	410	300
	4.	6	110	116	80
	5.	7	114	134	98
	6.	9	164	218	70
	7.	13	195	66	28
	8.	13	119	202	118
	9.	90	210	120	50
	10.	4	240	230	60
	11.	7	260	320	250
	12.	9	204	187	71

te parallel tussen de uitkomsten van de vetbepaling en de vitamine A-curve.

Deze uitkomsten wijzen erop, dat ook bij perniciëuse anaemie en megaloblastaire zwangerschapsanaemie een gestoorde resorptie kan bestaan. Dit is geheel in overeenstemming met de waarnemingen van GROEN 31). Deze auteur zag soms een verhoogd vetgehalte van de faeces bij perniciëuse anaemie. In een fraaie studie 32) heeft hij de resorptie van per os toegediende lipiodol nagegaan. Hij vervolgde de passage door de tractus intestinalis op een serie Röntgenfoto's en bepaalde ook de jodium-excretie. Normaal is na 8-10 uur de toegediende lipiodol niet meer te zien, doordat deze geresorbeerd is. Is de vetresorptie gestoord, zoals bij spruw, dan is na 8-10 uur nog lipiodol zichtbaar in het colon. Met deze techniek heeft GROEN vier patiënten met perniciëuse anaemie bestudeerd. Bij al deze patiënten zag hij een stoornis in de resorptie, die echter minder uitgesproken was dan bij spruw. In 1938 verscheen van de hand van dezelfde auteur 33) een artikel over de resorptie van glucose, waarbij hij duodenaal-sondage toepaste. Hij vond, dat bij drie van de vijf patiënten met perniciëuse anaemie een stoornis van de resorptie bestond, die verdween na levertoediening.

ERF en RHOADS 34) zagen bij twee patiënten met perniciëuse anaemie een verminderde resorptie van glycine. De glycine-belastingscurve werd normaal na levertherapie.

COOKE c.s. 35) beschreven eveneens een aantal patiënten met een verhoogde vetuitscheiding in de faeces, die klinisch en haematologisch een beeld vertoonden gelijkend op genuiene perniciëuse anaemie. De reactie op anti-anaemische therapie was echter minder goed dan bij klassieke perniciëuse anaemie. Mede op grond hiervan nemen zij aan, dat deze patiënten lijden aan idiopathische steatorrhoe. Het beeld bij de door ons beschreven patiënten komt echter overeen met het bekende beeld van de perniciëuse anaemie. Zij behoren meestal tot hogere leeftijdsgroepen. Lijders aan spruw hebben vaak als jonge volwassenen of als kinderen al klachten. Onze patiënten vertoonden een histamine-refractaire achylie. Afwijkingen van de kant van het zenuwstelsel waren frequent. Bij de glucosebelastingsproef trad als regel een normale stijging van de bloedspiegel op. Terwijl de megaloblastaire anaemie bij spruw in veel gevallen niet reageert op vitamine B12-therapie, werd bij de door ons als perniciëuse anaemie beschouwde groep altijd een normaal bloedbeeld verkregen na toediening van vitamine B12 of leverextract, dit in tegenstelling tot de ervaringen van COOKE c.s. bij hun patiënten.

Het is o.i. mogelijk om perniciëuse anaemie, megaloblastaire zwangerschapsanaemie en spruw onder te brengen in één groep, waarin aan de éne kant thuis horen patiënten alléén met megaloblastaire anaemie, die geen resorptiestoornis vertonen en aan de andere kant patiënten met een manifest defect in de resorptie, die geen megaloblastair beenmerg

hebben. In deze groep komen tussenvormen voor met zowel megaloblastaire anaemie als resorptiestoornis. In overeenstemming hiermee is de waarneming van LEISHMAN <sup>36</sup>). Deze zag tijdens de tweede Wereldoorlog in India epidemieën van spruw bij militair personeel. Tijdens dergelijke epidemieën vertoonde een aantal patiënten het klinische beeld van spruw, zonder dat er steatorrhoe bestond, terwijl bij het merendeel dit wel het geval was.

Het is mogelijk, dat ook bij inheemse spruw de steatorrhoe tijdelijk kan ontbreken.

#### Ziektegeschiedenis.

P.J., vrouw, 38 jaar. In 1935 werd zij door haar huisarts wegens bloedarmoede met ijzer en lever behandeld. Zij voelde zich daarna goed tot 1938. In 1939 werd zij door de huisarts onder de diagnose inheemse spruw ingezonden. Ze klaagde over moeheid, anorexie en diarrhoe. De kleur van de ontlasting was licht. Ze had hypochrome anaemie. Er was vrij zoutzuur in het maagsap. IJzertherapie had een bevredigend resultaat. Aangezien het vetgehalte van de faeces na SCHMIDT's dieet normaal was (totaal vet 20% van de droogrest), liet men de diagnose inheemse spruw varen ten gunste van de diagnose idiopathische hypochrome anaemie.

In 1947 kreeg zij weer lasten: moeheid, diarrhoe, tongpijn en pigmentatie van de huid. Ze werd door verschillende artsen behandeld. In 1951 werd zij in de Interne Kliniek opgenomen. Toen werd de diagnose inheemse spruw bevestigd door de laboratoriumgegevens:

glucosebelastingcurve (nuchter 78 mgr%, na 30 min. 72 mgr%, 60 min. 116 mgr%, 90 min. 108 mgr%, 120 min. 109 mgr%), vitamine A-belastingcurve (8 I.E. - 12 I.E. - 20 I.E. - 20 I.E.) en vetgehalte van de faeces (70% van de droogrest) en het karakteristieke pathologische Röntgenbeeld van de dunne darm.

In 1951 stond de diagnose inheemse spruw vast. In 1938 echter had zij dezelfde klachten, zonder dat het vetgehalte van de faeces verhoogd was. Het lijkt niet onmogelijk, dat de deficientieverschijnselen in 1935 en 1938 manifestaties waren van spruw, waarvan immers bekend is, dat spontane remisies optreden in het verloop. Ook hier zien we een voorbeeld van dissociatie tussen de steatorrhoe en de klinische verschijnselen.

De praktische betekenis van bovengenoemde gegevens is, dat we géén absolute waarde moeten hechten aan vetbepalingen in de faeces en aan vitamine A-belastingcurves voor de differentiele diagnostiek, zoals bv. DURANT aangeeft.

Gaan wij uit van de opvatting van CASTLE, dat gebrek aan de "liverextract factor" van causale betekenis is voor het ontstaan van spruw, dan moeten wij bij alle onbehandelde gevallen van spruw, ook indien het klassieke kenmerk van de deficientie, de megaloblastaire anaemie, nog ontbreekt, een lage spiegel van vitamine B12 of foliumzuur vinden.

Als we een geval van spruw met megaloblastaire anaemie onderzoeken, zal natuurlijk het gehalte van het bloed aan vitamine B12 of foliumzuur laag zijn.

Is vitamine B12- of foliumzuurgebrek echter een incidenteel gevolg van de resorptiestoornis, zoals FRAZER en DAVIDSON menen, dan kan men bij lijders aan spruw, die geen megaloblastaire anaemie vertonen, normale waarden vinden.

We waren in de gelegenheid bij vier van dergelijke patiënten de bloedspiegels van foliumzuur en vitamine B12 na te gaan.

Uit tabel 16 blijkt, dat deze patiënten geen daling van

TABEL 16

K.d.H.	Foliumzuur-activiteit bloed	Vitamine B12-gehalte serum
T.K.	1,7 mγ/ml.	-
A.R.	0,0 mγ/ml.	0,37 mγ/ml.
P.J.	2,3 mγ/ml.	1,9 mγ/ml. +)
	1,3 mγ/ml.	0,38 mγ/ml.

Gegevens van lijders aan inheemse spruw, die geen megaloblastaire anaemie hadden.

- +) Voor de gegevens over het vitamine B12-gehalte van het serum van P.J. zijn wij dank verschuldigd aan Dr. G.I.M. ROSS en Dr. D.L. MOLLIN, Postgraduate Medical School, London.

het vitamine B12-gehalte vertoonden, maar wel een lage foliumzuurspiegel.

Volgens sommige auteurs zijn aan het slijmvlies van het maagdarmlkanaal van lijders aan spruw bij autopsie geen afwijkingen te vinden; volgens anderen (ook FRAZER) bestaat er atrophie. Nu is de patholoog-anatoom bij het onderzoek van het darmkanaal gehandicapt door het snel optreden van autolyse. Daarom zullen de veranderingen in de mucosa van de dunne darm, die gevonden werden bij patiënt H.V. met steatorrhoe, beschreven in het vorige hoofdstuk, nog eens besproken worden. Deze patiënt bleek te lijden aan de ziekte van WHIPPLE en vette degeneratie van de lever met fibrose. Zoals elders door ARENDS, HADDERS en NIEWEG <sup>37)</sup> is uitééngezet, is de ziekte van WHIPPLE mogelijk een manifestatie van gebrek aan choline bij spruw.

Het slijmvlies van de dunne darm van deze man met foliumzuurgebrek was zeer atrophisch. De normale plooiën waren geheel verdwenen. Hier en daar waren stervormige littekens zichtbaar. Bij microscopisch onderzoek viel in de eerste plaats de atrophie van het epitheel op. De klierbuisjes waren grotendeels verdwenen (zie fig. 13). Bij nadere beschouwing zagen we enkele abnormale, grote cellen, waarvan de kernen in een proces van desintegratie verkeerden.

De vraag rijst, of we deze veranderingen op één lijn mogen stellen met de laesies, veroorzaakt door foliumzuurantagonisten bij muizen, die beschreven zijn door DUSTIN <sup>38)</sup>. Hij nam waar, dat in een bepaald stadium van de aminopterine-intoxicatie pathologische, grote cellen met duidelijke nucleoli voorkomen in het darmslijmvlies. Deze cellen vergelijkt DUSTIN met megaloblasten.

Als we het bovenstaande nog eens in het kort overzien, blijkt, dat foliumzuur en vitamine B12 in sommige geval-

len van spruw een gunstig effect hebben op de resorptie. Verder komt bij andere gevallen met gebrek aan vitamine B12 of foliumzuur een stoornis van de resorptie voor analoog aan die, waargenomen bij spruw.

We vinden bij spruw met behulp van de moderne microbiologische techniek aanwijzingen voor een deficiëntie van één van deze factoren, ook indien het klassieke criterium, megaloblastaire anaemie, nog ontbreekt.

Bij een patiënt, geobduceerd enkele uren na zijn dood, werden afwijkingen in het dunne darmslijmvlies aangetroffen, die doen denken aan de laesies door DUSTIN beschreven bij muizen met aminopterine-intoxicatie.

Het is daarom o.i. niet juist een gebrek aan foliumzuur of vitamine B12 als een incidenteel gevolg van de slechte resorptie te beschouwen, zoals men dat doet met de ijzerdeficiëntie en andere deficiënties, die we bij spruw kunnen zien.

In Hoofdstuk IV is uiteengezet, dat vitamine B12 en foliumzuur een haematopoietische activiteit hebben, omdat zij een rol spelen bij de kerndeling. Het bleek juistere deze stoffen cytopoietische factoren te noemen <sup>39)</sup>. Daarom zijn ze vooral noodzakelijk voor die weefsels, die veel kerndelingen vertonen. Er is bij proefdieren berekend, dat de levensduur van de cellen van de dunne darm ongeveer 2 x 24 uur is <sup>40)</sup>. De onderzoeken van BERNIER <sup>41)</sup> werden reeds genoemd. Hem bleek, dat het mondslijmvlies zeer gevoelig is voor bestraling. Deze eigenschap, die berust op een hoge mitose-frequentie, moet volgens hem als een weerspiegeling van een kenmerk van de andere delen van de tractus intestinalis gezien worden. Het lijkt daarom wel aannemelijk, zowel de glossitis van de spruwlijder als de atrophie van de dunne darm bij dezelfde patiënt als gevolg van een regeneratiestoornis te beschouwen.

Als men zich voorstelt, dat een stoornis van de morfologische integriteit van de darm de oorzaak is van functieverlies, verwacht men een vertraagde resorptie, niet alléén van vetten, maar van alle stoffen, die de normale darmwand passeren: glucose, fructose, aminozuren en vitaminen. Inderdaad blijkt het, dat de resorptiestoornis zich niet beperkt tot die substanties, die mogelijkwerwijze gefosphoryleerd worden, zoals VERZAR <sup>42)</sup> aangaf, maar dat ook bv. ureum en glycine slecht worden geresorbeerd.

Als men aan atrophie van het slijmvlies als gevolg van vitamine B12- of foliumzuurgebrek een belangrijke betekenis toekent bij spruw, rijst de vraag, waarom de therapie bepaald minder spectaculaire resultaten geeft dan bv. bij perniciëuse anaemie.

In de eerste plaats moet men bedenken, dat foliumzuur veelal per os toegediend wordt in dezelfde dosering, die gebruikt wordt bij de megaloblastaire zwangerschapsanaemie, waarbij het verlies van resorberend vermogen minder uitge-

sproken is. Men moet echter òf foliumzuur in een dosering van 10-20 mg. parenteraal geven òf de orale dosering sterk opvoeren om eenzelfde effect te bereiken. GIRDWOOD 43) heeft onlangs nog eens gewezen op de slechte resorptie van oraal gegeven foliumzuur bij spruw.

Een ander punt, waaraan weinig aandacht wordt geschonken is, dat een regeneratiestoornis van het darmslijmvlies veroorzaakt kan worden door gebrek aan vitamine B12. In dergelijke gevallen is foliumzuur tijdelijk effectief, maar op den duur verliest het zijn invloed op de mitose, zoals wij weten uit ervaringen, opgedaan bij lijders aan pernicieuse anaemie. Bij patiënten, die in deze categorie vallen, kan men neurologische afwijkingen zien ontstaan tijdens foliumzuurtherapie (UNGLEY 45) DAVIDSON 46)).

Geeft men daarentegen alle patiënten met spruw vitamine B12, zuiver of in de vorm van leverextract, dan zal men, de parallel tussen beenmerg en darmkanaal doortrekkend, géén effect kunnen verwachten bij de spruwlijder met foliumzuurgebrek. Hiermee in overeenstemming is, naast onze eigen ervaringen, ook de studie van FOX 46). Zeven lijders aan spruw, bij wie als onderhoudstherapie leverextract werd gebruikt, werden omgezet op foliumzuur. Zes van de zeven patiënten vertoonden hierop duidelijk verbetering.

Bij atrophie van het slijmvlies van het darmkanaal kan men verwachten, dat een regeneratie langere tijd in beslag neemt dan wanneer een hyperplastisch beenmerg het normale quantum cellen moet gaan produceren. Een polyneuritis door vitamine B12-gebrek reageert goed op therapie, maar door de anatomische verhoudingen is een restitutio ad integrum onmogelijk bij de funiculaire myelose. Het is niet uitgesloten te achten, dat bij chronische deficiënties iets dergelijks gebeurt in het darmkanaal, zodat de veranderingen in de mucosa irreversibel worden.

Daarnaast moet men rekening houden met de mogelijkheid, dat nog andere factoren een rol spelen bij het ontstaan van spruw. Het is een essentieel probleem voor de klinicus of tarwegluten, dat bij coeliakie een nadelig effect heeft, ook bij inheemse spruw uit de voeding moet worden verwijderd. In de enkele gevallen waarbij dit in onze kliniek geschiedde, had deze maatregel een gunstig effect. Het lijkt dus wel waarschijnlijk, dat ook voor spruw een nieuw terrein van onderzoek wordt geopend door het werk van de Utrechtse onderzoekers VAN DE KAMER, WEYERS, TEGELAERS en DICKE 47, 48, 49).

## LITERATUUR

### 1. A. Arends:

Persoonlijke mededeling.

### 2. S.J. Leitner, C.J.C. Britton en E. Neumark:

Bone Marrow Biopsy. Londen, 1949.

3. L.S.P. Davidson, R.H. Girdwood en E.M. Innes:  
Lancet 1 - 511 - 1947.
4. A.C. Frazer:  
Brit. Med. J. 2 - 669 - 1949.
5. A.C. Frazer:  
Brit. Med. J. 2 - 731 - 1949.
6. A.C. Frazer, J.M. French, G. Thomas en M.D. Thompson:  
Clin. Sci. 11 - 141 - 1952.
7. A.C. Frazer:  
Bull. de la Soc. Clin. Biol. 33 - 968 - 1951.
8. C. Elders:  
Over de behandeling en de oorzaken van Indische  
spruw en daarmee verwante symptomen complexen.  
1918.
9. C. Elders:  
N.T.v.G. 64 - 2189 - 1920.
10. W.B. Castle, C.P. Rhoads, H.A. Lawson en G.C. Payne:  
Arch. Int. Med. 56 - 627 - 1935.
11. J. Groen:  
Proefschrift. Amsterdam, 1935.
12. P.B. van Steenis in:  
W. Kouwenaar, P.B. van Steenis en Ch.W.F. Winckel:  
Leerboek der Tropische Geneeskunde.  
Amsterdam, 1951.
13. R.M. Suarez, T.D. Spies, F. Hernandez Morales en E. Perez:  
Blood, J. Hematol. 4 - 1124 - 1949.
14. J.F. Weir en M.W. Comfort:  
J. Lab. Clin. Med. 32 - 1231 - 1947.
15. A.W. Woodruff:  
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 44 - 223 - 1950.
16. W.J. Darby en E. Jones:  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 60 - 259 - 1945.
17. W.J. Darby, M.M. Kaser en E. Jones:  
J. Nutrition 33 - 243 - 1947.
18. W.J. Darby, E. Jones, H.F. Warden en M.M. Kaser:  
J. Nutrition 34 - 645 - 1947.
19. R.L. Hernandez Beguerie en T.D. Spies:  
Am. J. Röntgen. Radiumther. 56 - 337 - 1946.
20. W.H.H. Tegelaers:  
Proefschrift. Utrecht, 1950.
21. W.H.H. Tegelaers en H.A. Weijers:  
Maandschr. Kindergeneesk. 15 - 3 - 1947.
22. J.H. van de Kamer:  
Proefschrift. Utrecht, 1948.
23. J.H. van de Kamer, H. ten Bokkel Huinink en H.A. Weyers:  
J. Biol. Chem. 177 - 347 - 1949.
24. J. Badenoch:  
Lancet 1 - 238 - 1952.
25. M.M. Wintrobe:  
Clinical Hematology. Philadelphia, 1951.



26. L. Heilmeyer en H. Begemann:  
Handbuch der innere Medizin, Bd. II. Berlin, 1951.
27. T.M. Durant en L.A. Zibold:  
Med. Clin. N. America 33 - 1671 - 1949.
28. C.A. van Hees:  
Proefschrift. Leiden, 1937.
29. K. Hinsberg en K. Lang:  
Medizinische Chemie. München, 1951.
30. M. van Eekelen, A. Emmerie en L.K. Wolff:  
Z.f. Vitam. forschung 6 - 150 - 1937.
31. J. Groen en I. Snapper:  
Am. J. Med. Sc. 193 - 633 - 1937.
32. J. Groen:  
Am. J. Med. 4 - 814 - 1948.
33. J. Groen:  
New Engl. J. Med. 218 - 247 - 1938.
34. L.A. Erf en C.P. Rhoads:  
J. Clin. Invest. 19 - 409 - 1940.
35. W.T. Cooke, A.L.P. Peeney en C.F. Hawkins:  
Lancet 1 - 834 - 1950.
36. A.W.D. Leishman:  
Lancet 2 - 813 - 1945.
37. A. Arends, H.N. Hadders en H.O. Nieweg:  
Voordracht Ned. Ver. Path. Anat. Juni 1952.
38. P. Dustin:  
Rev. d'Hémat. 5 - 603 - 1950.
39. T.H. Jukes, A.L. Franklin en E.L.R. Stokstad:  
Ann. New York Acad. Sc. 52 - 1336 - 1950.
40. C.P. Leblond in:  
Isotopes in Biochemistry.  
Ciba Foundation Conference. Londen, 1951.
41. J.L. Bernier:  
J. Am. Dent. Assoc. 34 - 647 - 1949.
42. F. Verzar en E.J. McDougall:  
Absorption from the Intestine. Londen, 1936.
43. R.H. Girdwood:  
Lancet 2 - 626 - 1952.
44. C.C. Ungley:  
Proc. Roy. Soc. Med. 43 - 537 - 1950.
45. I.S.P. Davidson en R.H. Girdwood:  
Lancet 1 - 360 - 1948.
46. H.J. Fox:  
New Engl. J. Med. 240 - 801 - 1951.
47. J.H. van de Kamer:  
Voeding 13 - 1 - 1952.
48. H.A. Weyers:  
Proefschrift. Utrecht, 1950.
49. W.K. Dicke:  
Proefschrift. Utrecht, 1950.

## HOOFDSTUK VII

### De theorie van Castle.

#### De betekenis van de<sup>e</sup> intrinsic factor

In een beroemde serie proeven heeft CASTLE <sup>1, 2)</sup> vastgesteld, dat rundvlees, geïncubeerd met normaal maagsap, bij toediening per os aan patiënten met pernicieuse anaemie therapeutische werking heeft. Dit effect bleef uit, indien òf alleen vlees òf alleen maagsap gegeven werd. Bovendien bleek hem, dat vlees tezamen met maagsap van een lijder aan pernicieuse anaemie niet actief was. Op grond van deze waarnemingen kwam CASTLE tot zijn klassieke theorie, dat een extrinsic factor in het voedsel en een intrinsic factor in het maagsap nodig zijn, die samen de anti-pernicieuse anaemiefactor (p.a. factor) vormen.

Latere onderzoekers, o.a. GROEN <sup>3)</sup> en KAMERLING <sup>4)</sup>, hebben het werk van CASTLE bevestigd.

In gewijzigde vorm is de theorie van CASTLE ook nu gehandhaaft <sup>5, 6)</sup>. Men neemt tegenwoordig aan, dat vitamine B12 de extrinsic factor is. Deze opvatting is gebaseerd op de ervaring, dat vitamine B12 per os slechts weinig actief is, terwijl orale toediening van vitamine B12 in combinatie met een bron van intrinsic factor wèl effect heeft.

Vitamine B12 gedraagt zich echter ook als de p.a. factor, zoals blijkt uit de klinische activiteit bij intramusculaire injectie. Hieruit komt de opvatting voort, dat de intrinsic factor de resorptie van vitamine B12 bevordert. Een bevestiging hiervan leveren recente studies van WELCH c.s. <sup>7)</sup>. Onderzoekingen met "gemerkt" vitamine B12 (cyanocobalamine-Co60) hebben aan het licht gebracht, dat bij lijders aan pernicieuse anaemie van 0,5 γ oraal toegediend vitamine B12 70-95% kan worden teruggevonden in de faeces. Geeft men deze dosis vitamine B12 tezamen met een praeparaat van varkensmaag, dan komt slechts 5-30% hiervan in de faeces terecht.

Hoe men zich deze werking van de intrinsic factor moet voorstellen, is onbekend. CASTLE denkt de intrinsic factor als een "specific carrier across the intestinal membrane" (zie TAUSK <sup>8)</sup>). Het is echter ook mogelijk, dat de intrinsic factor vitamine B12 beschermt tegen afbraak door fermenten in het darmkanaal of verbruik door de darmflora. Een samenvatting van de literatuur hierover geeft UNGLEY <sup>9)</sup>.

GLASS en zijn medewerkers <sup>10, 11, 12)</sup> menen, dat de "glandular mucoproteïne"-fractie van normaal maagsap identiek is met de intrinsic factor. Deze onderzoekingen zijn nog niet bevestigd.

Men neemt meestal aan, dat vitamine B12 als extrinsic

factor met de voeding toegevoerd slechts dan als p.a. factor werkzaam is, wanneer de intrinsic factor zorgt voor de resorptie.

CALLENDER en LAJTHA <sup>13)</sup> (1951) zijn echter teruggekomen op de klassieke leer van CASTLE op grond van de uitkomsten van hun weefselkweek-experimenten en van de bevindingen van TERNBERG en EAKIN <sup>14)</sup> en ROSS <sup>15)</sup>.

TERNBERG en EAKIN vonden in normaal maagsap een factor, die met vitamine B12 een complex vormt, zodat vitamine B12 niet meer beschikbaar is voor de groei van de *Lactobacillus lactis* Dorner. Door verhitting kon vitamine B12 hieruit weer vrijgemaakt worden. ROSS bestudeerde de groeibevorderende activiteit van menselijk serum voor de groene alge *Euglena gracilis*, een organisme, dat vitamine B12 behoeft voor de groei. Na verhitting van serum op 100° gedurende 30-60 min. vond hij een aanzienlijke verhoging van de vitamine B12-activiteit, zodat hij tot de conclusie kwam, dat vitamine B12 in normaal serum voor het grootste gedeelte in een gebonden vorm verkeert.

CALLENDER en LAJTHA verrichtten weefselkweekproeven met beenmerg van patiënten met perniciëuse anaemie in verdund serum van andere onbehandelde lijders aan deze ziekte. Zij voegden vitamine B12 aan het medium toe. Hiervan zagen zij geen effect. Wel bleek vitamine B12 met normaal maagsap actief. Leverextract was ook werkzaam, maar dit schreven deze auteurs <sup>16)</sup> toe aan de aanwezigheid van *citrovorum* factor in de door hen gebruikte leverextracten. Serum van behandelde lijders aan perniciëuse anaemie <sup>17)</sup> bevorderde eveneens de overgang van megaloblastair in normoblastair merg in de weefselkweek.

Deze onderzoekers concludeerden hieruit, dat vitamine B12 slechts in de vorm van een complex zijn invloed kan uitoefenen op megaloblastair beenmerg. Zij keren dus terug tot de oude theorie van CASTLE, volgens welke de extrinsic factor en de intrinsic factor tezamen een complex vormen, dat de eigenlijke p.a. factor is. Volgens de opvatting van CALLENDER en LAJTHA is de betekenis van de intrinsic factor tweevoudig: hij speelt een rol bij de resorptie en is bovendien nodig, tezamen met het vitamine B12, bij de celstofwisseling.

Om nu de haematopoietische activiteit van intramusculair toegediend vitamine B12 bij patiënten met perniciëuse anaemie te verklaren, postuleerden CALLENDER en LAJTHA het bestaan van een "extra-gastric intrinsic factor".

Deze opvatting werd door ons nog eens getoetst in een serie weefselkweekexperimenten met beenmerg, verkregen door sternumpunctie bij onbehandelde lijders aan perniciëuse anaemie. De activiteit van vitamine B12, foliumzuur en twee leverpraeparaten werd vergeleken. In het éne leverpraeparaat kwam vitamine B12 voor als een proteïnocobalamine, gebonden aan een polypeptide of eiwit. Het bevatte geen foliumzuur of *citrovorum* factor, maar misschien een minimale hoe-

TABEL 17

24 UUR	% v.h. totale aantal cellen	Uitgangs- suspensie	0,25 ml. Tyrode toegevoegd aan 2 ml. medium	0,8 gamma vit. B12 in 0,25 ml. Tyrode toegevoegd aan 2 ml. medium	4 gamma foliumzuur in 0,25 ml. Tyrode toege- voegd aan 2 ml. medium	0,25 ml. verdund leverextract met 0,8 gamma cyanoco- balamine	0,25 ml. extract proteïne
Pat. K:	Jong	39	27	22	19	18	
	Pathologisch	52	36	29	24	28	
Pat. B:	Jong	19	19	20	11	12	
	Pathologisch	60	44	43	29	26	
Pat. G:	Jong	35	25	17	16	19	
	Pathologisch	52	47	45	44	44	
Pat. K.W.:	Jong	36	19	12	15	10	
	Pathologisch	60	32	28	27	25	
Pat. W:	Jong	24	10	8	3		
	Pathologisch	37	25	24	21		
Pat. H:	Jong	21	26	19	12		
	Pathologisch	41	48	36	30		

TABEL 18

48 UUR	% v.h. totale aantal cellen	Uitgangs- suspensie	0,25 ml. Tyrode toegevoegd aan 2 ml. medium	0,8 gamma vit. B12 in 0,25 ml. Tyrode toegevoegd aan 2 ml. medium	4 gamma foliumzuur in 0,25 ml. Tyrode toege- voegd aan 2 ml. medium	0,25 ml. verdund leverextract met 0,8 gamma cyanoco- balamine	0,25 ml. extract proteïne
Pat. K:	Jong	39	6	3	7	5	
	Pathologisch	52	20	24	20	9	
Pat. B:	Jong	19	20	28	6	8	
	Pathologisch	60	38	27	23	24	
Pat. G:	Jong	35	5	7	7	6	
	Pathologisch	52	36	32	26	34	
Pat. K.W.:	Jong	36	2	3	4	3	
	Pathologisch	60	12	14	14	13	

TABEL 19

Frequentie van de celdelingen

Uitgangs suspensies:			
6 beenmerg kweken		gemiddeld	24/10000
Na 24 uur:			
6 kweken	Tyrode	"	24/10000
6 kweken	Foliumzuur	"	29/10000
6 kweken	Vit. B12	"	19/10000
6 kweken	Leverextract met cyanocobalamin	"	31/10000
6 kweken	Leverextract met proteïnocobalamin	"	31/10000
Na 48 uur:			
6 kweken	Tyrode	"	15/10000
	Foliumzuur	"	14/10000
	Vit. B12	"	19/10000
	Leverextract met cyanocobalamin	"	35/10000
	Leverextract met proteïnocobalamin	"	41/10000

veelheid thymidine. Ditzelfde extract werd ook toegepast na behandeling met KCN, waardoor het in de oplossing aanwezige vitamine B12 overging in cyanocobalamine, dus in een "vrije vorm" 18, 19).

#### Techniek:

De methode is met vrij veel modificaties ontleend aan OSGOOD en BROWNLEE 20).  $\pm$  2 ml. bij sternumpunctie opgezogen beenmerg wordt uitgespoten in een centrifugebuis met 8 ml. oplossing van het door OSGOOD aangegeven citraathoudende mengsel van zouten. Door schudden wordt een suspensie van beenmergcellen verkregen, die vervolgens gecentrifugeerd wordt. De bovenstaande vloeistof wordt afgezogen. Daarna wordt TYRODE-oplossing toegevoegd. Na opschudden wordt nogmaals gecentrifugeerd en vervolgens de bovenstaande vloeistof wederom afgezogen. Het sediment wordt opgeschud met vloeistof van TYRODE. Daarna voegt men aan de verkregen celsuspensie serum van de patiënt toe in een verhouding van vier delen serum op één deel TYRODE. Men brengt nu telkens 2 ml. van het mengsel over in de cultuurbuizen, waaraan men toevoegt 0,25 ml. TYRODE of 0,25 ml. van de te testen oplossing. De cultuurbuizen worden bevestigd op een ronddraaiende trommel in de warme kamer (temperatuur 37°). Bij het beëindigen van de proef na 24 of 48 uur wordt gecentrifugeerd. Van het sediment maakt men uitstrijkpraeparaten, die worden gekleurd volgens de methode van MAY-GRÜNWARD-GIEMSA. Het spreekt vanzelf, dat men alle voorzorgen moet nemen om besmetting van de kweken te voorkomen.

#### Resultaten

Bij de bestudering van de praeparaten valt op, dat veel cellen gedegenereerd zijn. Verder is opmerkelijk, dat men slechts weinig jonge cellen van de rode reeks ziet, terwijl in het beenmerg van onbehandelde lijders aan perniciëuse anaemie het beeld wordt beheerst door de rode reeks.

Als criteria voor de activiteit van de gebruikte praeparaten werden genomen:

- a. de afname van het percentage jonge cellen (promegaloblasten, proerythroblasten, basophile megaloblasten en erythroblasten, myeloblasten en promyelocyten).
- b. de verhouding tussen pathologische en normale celtypen.
- c. de frequentie van de mitosen.

LAJTHA bestudeerde in zijn experimenten alleen de verhouding tussen de cellen van de normale en die van de pathologische rode reeks. Bij het differentieren staat men echter voor de moeilijkheid, dat men veel cellen ziet, die niet duidelijk pathologisch, maar ook niet geheel normaal zijn. Daarom is in deze serie proeven het aantal mitosen vastgelegd, want bij het gebruik van dit criterium spelen subjectieve factoren een veel geringere rol.

Bij het overzien der resultaten in tabel 17, 18 en 19 valt op, dat de verschillen tussen de geteste praeparaten in hun effect op het percentage jonge en pathologische cellen veel minder uitgesproken zijn dan in de experimenten van LAJTHA en CALLENDER en LAJTHA. Men moet bedenken, dat de concentraties van vitamine B12 en foliumzuur in de proeven van LAJTHA en in deze serie ongeveer 1000 x zo hoog zijn als in normaal bloed. Conclusies uitdit soort experimenten moeten dan ook met reserve worden beschouwd.

Bij het overzien van de gegevens in tabel 19 valt op, dat vitamine B12 in tegenstelling tot foliumzuur en leverextract niet actief is in de kweekproeven. In dit opzicht komen onze bevindingen overeen met die van LAJTHA. Het blijkt echter, dat de gebruikte leverpraeparaten beide werkzaam zijn. Vooral komt dit tot uiting in de frequentie van de mitosen. Volgens deze gegevens maakt het dus geen verschil of vitamine B12 in vrije of in gebonden staat in het extract voorkomt.

HORRIGAN c.s. <sup>21)</sup> brachten vitamine B12 of foliumzuur in de beenmergholte door een cristapunctie bij lijders aan pernicieuse anaemie. Na 48 uur puncteerden zij weer op dezelfde plaats en ook in de andere crista iliaca. Op deze wijze stelden zij vast, dat foliumzuur geen effect heeft op de megaloblasten ter plaatse, maar dat vitamine B12 wel een locale werking heeft. Er is dus een discrepantie tussen de resultaten van de proeven in vitro en die in vivo.

Het is mogelijk, dat de werkzaamheid van het foliumzuur in de weefselkweekexperimenten moet worden toegeschreven aan de hoge concentratie van dit vitamine. Het feit, dat in vitro vitamine B12 alléén niet actief is, kan men echter niet toeschrijven aan een lage concentratie. Het lijkt wel mogelijk, dat een accessoire factor noodzakelijk is, opdat vitamine B12 werkzaam kan zijn. Men kan zich voorstellen, dat in de proeven van HORRIGAN deze accessoire factor door de bloedsomloop op de plaats van de vitamine B12-injectie gebracht wordt. Bij de experimenten in vitro echter moet deze substantie van buitenaf toegevoerd worden.

Het is onjuist om deze accessoire substantie te identificeren met de intrinsic factor van de theorie van CASTLE, zoals werd gedaan door CALLENDER en LAJTHA. Immers leverpraeparaten, die een bron van de accessoire factor vormen, zijn bij orale toediening alleen effectief, wanneer zij tezamen met een bron van de intrinsic factor, bv. normaal maagsap of poeder van de varkenspylorus, gegeven worden.

In ieder geval pleiten noch de waarnemingen van HORRIGAN noch onze eigen proeven vóór de opvatting, dat vitamine B12 alleen in gebonden vorm op de megaloblast zou kunnen inwerken. Wel moet het waarschijnlijk geacht worden, dat het in de cel zelf alleen werkzaam is als coenzym tezamen met een apoenzym.

## LITERATUUR

1. W.B. Castle:  
Am. J. Med. Sci. 178-764-1929.
2. W.B. Castle, W.C. Townsend en C.W. Heath:  
Am. J. Med. Sci. 180-305-1930.
3. J. Groen:  
Proefschrift. Amsterdam, 1935.
4. A.C.W.G. Kamerling:  
Proefschrift. Utrecht, 1936.

5. L. Berk, W.B. Castle, A.D. Welch, R.W. Heinle, R. Anker  
en M. Epstein:  
New Engl. J. Med. 239-911-1948.
6. B.E. Hall, E.H. Morgan en D.C. Campbell:  
Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 24-99-1949.
7. A.D. Welch, V. Scharf, R.W. Heinle en G.C. Meacham:  
Fed. Proc. 11-308-1952.
8. M. Tausk:  
Het Hormoon 15-4-1950.
9. C.C. Ungley:  
Nutr. Abst. Rev. 21-1-1951.
10. G.B.J. Glass, L.J. Boyd, M.A. Rubinstein, C.S. Svigals  
en J.E. Chevalley:  
Science 115-101-1952.
11. G.B.J. Glass, L.J. Boyd en C.S. Svigals:  
Fed. Proc. 11-54-1952.
12. G.B.J. Glass, L.J. Boyd, M.A. Rubinstein, C.S. Svigals  
en J.E. Chevalley:  
Fed. Proc. 10-50-1951.
13. S.T. Callender en L.G. Lajtha:  
Blood, J. Hematol. 6-1234-1951.
14. J.L. Ternberg en R.E. Eakin:  
J. Am. Chem. Soc. 71-3858-1949.
15. G.I.M. Ross:  
Nature 166-270-1950.
16. S.T. Callender en L.G. Lajtha:  
J. Clin. Pathol. 4-204-1951.
17. L.G. Lajtha:  
Clin. Sci. 9-287-1950.
18. H.G. Wijmenga, W.L.C. Veer en J. Lens:  
Biochem. Biophys. Acta 6-229-1950.
19. H.G. Wijmenga:  
Proefschrift. Utrecht, 1951.
20. E.E. Osgood en I. Brownlee:  
J. Am. Med. Ass. 108-1793-1937.
21. D. Horrigan, T. Jarrold en R.W. Vilter:  
J. Clin. Invest. 30-31-1951.



# SAMENVATTING

## Inleiding

Na een kort historisch overzicht wordt een uiteenzetting gegeven van het onderwerp van het proefschrift. De consequenties, die voortkomen voor de klinicus uit de invoering van foliumzuur, citrovorum factor, vitamine B12, uracil, thymine en thymidine, factoren, die een anti-anaemische werking hebben, worden besproken. Ook wordt de pathogenese van verschillende vormen van anaemie geanalyseerd.

## Hoofdstuk I

Er wordt een overzicht gegeven van de resultaten, verkregen bij de behandeling van een serie patiënten met megaloblastaire anaemie. Wanneer de diagnose gesteld was, werd in het algemeen systematisch eerst vitamine B12 gegeven. Alleen wanneer dit niet effectief bleek te zijn, werd foliumzuur toegediend. Zes en veertig gevallen van anaemie perniciosa werden behandeld. Als men de resultaten van de vitamine B12-therapie bestudeert, komt men tot de conclusie, dat deze even goed zijn als die van de behandeling met goede leverextracten. Een voordeel is, dat bij de vitamine B12-therapie veel minder allergische verschijnselen waargenomen worden.

Ook de voortgezette behandeling met vitamine B12 bleek effectief. Met de gebruikelijke normen bij de beoordeling van de toestand van de lijder aan perniciëuse anaemie in remissie werden geen aanwijzingen gevonden voor een gebrek aan accessoire factoren.

De jongste lijder aan anaemia perniciosa was veertien jaar. Aan de mogelijkheid van spruw werd gedacht op grond van de anamnese, die anderzijds ook deed denken aan de mogelijkheid van megaloblastaire voedingsanaemie. De differentiële diagnostiek tussen de verschillende vormen van megaloblastaire anaemie werd besproken naar aanleiding van dit geval. Het ontbreken van intrinsic factor in het maagsap en de afwezigheid van steatorrhoe pleitten voor de diagnose juveniele perniciëuse anaemie.

Bij een man van 65 jaar, die met foliumzuur behandeld werd, vonden wij glossitis, megaloblastaire anaemie en gecombineerde strengaandoening. Vitamine B12 bleek effectief bij deze patiënt, bij wie foliumzuur gefaald had.

Zes patiënten met megaloblastaire anaemie na partiele maagresectie en één patiënt met megaloblastaire anaemie na totale maagresectie werden beschreven. Microscopisch onderzoek werd verricht in die gevallen, waarin het resectie-

praeparaat bewaard was. Op grond hiervan zijn wij tot de conclusie gekomen, dat bij twee van de zes patiënten de resectie de oorzaak was van het ontbreken van de intrinsic factor en dat bij twee anderen waarschijnlijk genuiene perniciëuse anaemie bestond. De oorzaak van de anaemie was onzeker in de overige twee gevallen.

Bij twee patiënten was de langdurige toediening van een eiwitarm dieet de oorzaak van vitamine B12-tekort. Dit dieet was voorgeschreven wegens een nieraandoening. Deze klinische waarneming, alsook de dierproeven over de invloed van vitamine B12 op de stikstofexcretie, wijst er op, dat het gewenst is leverextract als bron van vitamine B12 te geven aan die patiënten, bij wie een langdurige beperking van de eiwittoevoer geïndiceerd is. Dit kan ertoe bijdragen deze mensen langer in een redelijke toestand te houden.

Megaloblastaire anaemie kan tijdens de graviditeit optreden als een manifestatie van perniciëuse anaemie of spruw. Daarnaast komt een derde type van megaloblastaire anaemie voor. Dit vindt men alleen in de tweede helft van de graviditeit en de daarop volgende periode. Wij hebben acht patiënten met deze vorm van megaloblastaire anaemie bestudeerd. Bij drie van deze vrouwen was vitamine B12 actief. Bij twee anderen daarentegen had vitamine B12 géén effect op de algemene toestand en het bloedbeeld, terwijl foliumzuur een spectaculaire werking had. Bij één patiënte werden bij hormoonbepalingen in de urine abnormale waarden gevonden tijdens de graviditeit, bij enkele anderen niet. Deze gegevens pleiten niet voor een hormonale stoornis als oorzaak van de megaloblastaire zwangerschapsanaemie. De mogelijkheid wordt geopperd, dat men hier te doen heeft met een gevolg van de deficientie. Laesies in de testes bij een man van 36 jaar met foliumzuurgebrek doen denken aan de mogelijkheid van een invloed van foliumzuur op het voortplantingsapparaat.

Bij twee patiënten met Indische spruw bleek vitamine B12 goed werkzaam.

Bij inheemsche spruw echter was het effect van vitamine B12 zeer wisselend. In twee gevallen trad na de toediening van vitamine B12 een haematologische remissie op. Bij één patiënte werd weliswaar een reticulocyten crisis gezien, maar het beenmerg bleef megaloblastair. Pas na toediening van foliniumzuur (folinic acid) waren geen megaloblasten in het beenmergpunctaat meer aantoonbaar. Foliumzuur gaf verbetering bij twee patiënten. De resultaten van de behandeling met vitamine B12 en foliumzuur zijn bij inheemse spruw in het algemeen minder fraai dan bij de andere ziektebeelden, waarbij deze medicamenten geïndiceerd zijn.

Bij een patiënt met megaloblastaire anaemie ten gevolge van een maag-colon-fistel bleek vitamine B12 actief te zijn.

Door verschillende auteurs is de mogelijkheid naar voren gebracht, dat in de bloedvormende weefsels een deficientie kan ontstaan door gestoorde stapeling van de p.a. factor in

de lever. Naar aanleiding hiervan werden drie patiënten met een combinatie van megaloblastaire anaemie en leverbeschadiging besproken. In deze gevallen werden de diagnoses genuiene perniciëuse anaemie, inheemse spruw en megaloblastaire voedingsanaemie gesteld.

Een analyse van deze ziektegeschiedenissen maakte het niet aannemelijk, dat gestoorde stapeling de oorzaak was van de megaloblastaire anaemie in deze gevallen. We zijn geneigd het gecombineerd voorkomen van leveraandoeningen en megaloblastaire anaemie te beschouwen als een gevolg van een (multiple) deficientie. Er werd op gewezen, dat bij dierproeven bleek, dat de deficientie, die megaloblastaire anaemie veroorzaakt, kan praedisponeren tot leverbeschadiging.

## Hoofdstuk II

In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van een studie over de vitamine B12-activiteit van serum voor *Lactobacillus leichmannii* en de foliumzuur-activiteit van bloed voor *Streptococcus faecalis*. Bij normale mensen variëren de uitkomsten van de vitamine B12-bepalingen van 0,3 – 1,05 mγ/ml., gemiddeld 0,47 mγ/ml.; van de foliumzuur-bepalingen van 2,9 – 24,0 mγ/ml., gemiddeld 6,9 mγ/ml.

Bij genuiene perniciëuse anaemie en andere vormen van megaloblastaire anaemie, die gevoelig zijn voor behandeling met vitamine B12 (één geval van megaloblastaire zwangerschapsanaemie, één geval van megaloblastaire anaemie ten gevolge van een maag-colon-fistel en één geval van megaloblastaire voedingsanaemie), blijkt het vitamine B12-gehalte van het serum laag te zijn. Deze gegevens ondersteunen de opvatting, dat deze types van megaloblastaire anaemie berusten op gebrek aan vitamine B12. Hogere waarden zijn gevonden bij één lijder aan spruw en één aan megaloblastaire zwangerschapsanaemie (1,9 en 1,6 mγ/ml.).

De beoordeling van de resultaten van foliumzuur-bepalingen is moeilijk. Bij patiënten, die refractair zijn tegen vitamine B12 (één geval van megaloblastaire zwangerschapsanaemie en vier gevallen van spruw), blijken de foliumzuur-waarden laag te zijn, zoals te verwachten is op grond van de uitkomsten van de behandeling met foliumzuur bij dit soort patiënten.

De uitkomsten van de foliumzuur-bepalingen bij onbehandelde patiënten met anaemia perniciosa zijn wisselend. Lage waarden worden gevonden in ongeveer de helft van de gevallen; bij de andere patiënten zijn de waarden normaal te noemen.

## Hoofdstuk III

Bij zeven onbehandelde lijders aan perniciëuse anaemie werd nagegaan wat het effect van een injectie van vitamine B12 was op de foliumzuuractiviteit van het bloed (voor en na behandeling met papaïne). Het direct waargenomen gevolg was

een daling van de foliumzuuractiviteit (zowel de "direct meetbare" als de "totale" hoeveelheid foliumzuur). Soms werd dit verschijnsel reeds na twee uur gezien. In al die gevallen, waarin de studie langer dan 2 maal 24 uur werd voortgezet, werd na deze daling een stijging gevonden, hoewel géén extra foliumzuur werd toegediend. Deze waarneming pleit niet voor de mogelijkheid, dat we bij genuiene perniciose anaemie met een gecombineerde vitamine B12- en foliumzuur-deficientie te maken hebben. Toch werden bij een patiënte met megaloblastaire anaemie en spruw lage foliumzuur- en vitamine B12-waarden gevonden. Zoals reeds is vermeld, had vitamine B12-toediening een reticulocytencrisis ten gevolge, hoewel het beenmerg megaloblastair bleef. Bij deze patiënte bleef de foliumzuurspiegel laag, zodat we geloven, dat bij haar een gecombineerde deficientie bestond.

Bij een bespreking van deze gegevens werd als verklaring naar voren gebracht:

- a. dat door de toediening van vitamine B12 bij de onbehandelde lijder aan perniciose anaemie het verbruik van foliumzuur wordt versneld, doordat een syntheseproces in de cel, waarvoor vitamine B12 en foliumzuur in verschillende stadia als coenzymen noodzakelijk zijn en dat vertraagd is door het tekort aan vitamine B12, nu op gang gebracht wordt, doordat weer vitamine B12 beschikbaar is voor de weefsels. Deze hypothese werd naar voren gebracht door WRIGHT c.s. op grond van microbiologische waarnemingen. In overeenstemming met deze opvatting is ook de daling van de vitamine B12-spiegel bij een vrouw met megaloblastaire zwangerschapsanaemie na behandeling met foliumzuur (van 1,6 tot 0,66  $\mu\text{g}/\text{ml.}$ ) en de hoge spiegel in een geval van spruw met foliumzuurgebrek (1,9  $\mu\text{g}/\text{ml.}$ ).
- b. vitamine B12 heeft, hetzij direct, hetzij indirect, invloed op de stapeling van factoren van de foliumzuur-groep in de lever. Na toediening van vitamine B12 wordt foliumzuur of citrovorum factor (beide stoffen bevorderen de groei van de *Streptococcus faecalis*) vrijgemaakt uit de lever. Hierdoor kan men de lage foliumzuur-waarden bij een aantal van de onbehandelde lijders aan perniciose anaemie en ook de stijging na toediening van vitamine B12 verklaren.

#### Hoofdstuk IV

Microbiologische zowel als klinische gegevens over de werkzaamheid van bestanddelen van de nucleïnezuren wijzen erop, dat vitamine B12 en foliumzuur hun genezende werking bij de megaloblastaire anaemie, althans ten dele, danken aan een invloed op de synthese van nucleïnezuren.

De desoxyribosenucleïnezuren (DNA) vormen een essentieel bestanddeel van de chromosomen. Vorming van DNA treedt op

bij de mitose, waarbij het aantal chromosomen verdubbeld wordt. Een stoornis van de DNA-synthese ten gevolge van vitamine B12- of foliumzuur-tekort zal daarom het eerst tot uiting komen in die weefsels, die het grootste aantal celdelingen vertonen: het haematopoietische systeem en de tractus intestinalis, zodat megaloblastaire anaemie en glossitis ontstaan.

De aangehaalde experimentele gegevens wijzen erop, dat foliumzuur alleen invloed heeft op de DNA-vorming, terwijl vitamine B12 daarentegen noodzakelijk is zowel voor de synthese van RNA als voor die van DNA. Grote hoeveelheden RNA zijn te vinden in de zenuwcel. De RNA in de zenuwcel speelt een rol bij de eiwit-synthese, die nodig is om het axon intact te houden.

Bij patiënten met vitamine B12-gebrek kunnen we daarom afwijkingen verwachten vooral in die delen, waarin dit RNA eiwitsynthese-mechanisme het meest intensief is. Deze delen worden gevormd door de cellen met de langste axonen, die men vindt in de perifere zenuwen. De aantasting van het zenuwstelsel neemt dan ook in eerste instantie de vorm aan van polyneuritis. Gaat het ziekteproces verder, dan kunnen ook de langste axonen in het centrale zenuwstelsel, de pyramidebanen en de achterstrengen, afwijkingen vertonen, zodat het beeld van de gecombineerde strengaandoening ontstaat.

Omdat foliumzuur géén directe werking heeft op de RNA-stofwisseling, zien wij geen laesies van het zenuwstelsel bij patiënten met gebrek aan foliumzuur.

In dit hoofdstuk worden de theorieën van VILTER c.s. en JUKES c.s. vergeleken. Een modificatie van de hypothese van JUKES wordt voorgesteld. Een schema hiervan vindt men in fig. 11. Op deze wijze kan men de haematopoietische werking van foliumzuur aan de ene kant en aan de andere kant het schadelijke effect van dit vitamine op het zenuwstelsel bij de patiënt met gebrek aan vitamine B12 verklaren. Door het geven van extra foliumzuur wordt een groter deel van de beschikbare hoeveelheid pyrimidinebasen gemethyleerd, waardoor thymine gevormd wordt. Door de productie van thymine kan de DNA-synthese op peil gehouden worden, zodat de anaemie, althans tijdelijk, verbetert. Dit gaat echter ten koste van het op zichzelf al vaak onvoldoende quantum uracil, waardoor de RNA-vorming afneemt, zodat de aandoening sneller dan tevoren voortschrijdt in het zenuwstelsel.

Als men een megaloblastaire anaemie door foliumzuur-gebrek met vitamine B12 behandelt, zal dit geen haematopoietisch effect hebben, ook al zou meer uracil gevormd worden. In overeenstemming hiermee is de waarneming van VILTER, die uracil onwerkzaam bevond in een geval van megaloblastaire zwangerschapsanaemie, waarbij thymine haematopoietisch actief bleek. Uracil heeft echter wél effect op de bloedvorming bij genuiene perniciose anaemie.

## Hoofdstuk V

"Erythroblastic anemia" bij miltatrophie werd gezien in vijf gevallen. Bij vier van de patiënten werden verschijnenselen gevonden, die deden denken aan inheemse spruw. De vijfde patiënt werd wegens chronische glomerulonephritis behandeld met een eiwitarm dieet. Bij één patiënt werd het effect van foliumzuur op het periphere bloed bestudeerd: opvallend was het verdwijnen van de orthochromatische normoblasten en het uitéenvallen van de HOWELL-JOLLY-lichaampjes. Dit werd geïnterpreteerd als het gevolg van een werking van foliumzuur op de milt. De theorie werd naar voren gebracht, dat de miltatrophie berust op een regeneratiestoornis door chronisch foliumzuur-tekort.

## Hoofdstuk VI

De betekenis van vitamine B12 en foliumzuur bij de behandeling van de spruw wordt geanalyseerd. Volgens sommige autoriteiten (FRAZER en DAVIDSON) beperkt de invloed van deze vitaminen bij de inheemse spruw zich tot de bloedvormende weefsels, terwijl de resorptie niet verbetert. ELDERS en CASTLE echter brachten de mening naar voren, dat de spruw veroorzaakt wordt door een deficiëntie. DARBY toonde aan, dat door behandeling met foliumzuur de vitamine A-curve en de glucose-curve verbeteren. Hij is dan ook van mening, dat spruw een gevolg is van gebrek aan foliumzuur.

We hebben een aantal gegevens verkregen, die betrekking hebben op dit punt.

Bij patiënten met een tekort aan vitamine B12 of foliumzuur werd een stoornis in de resorptie gevonden. Het vetgehalte van de faeces werd bij deze patiënten bepaald. De waarden bleken abnormaal hoog bij ongeveer tweederde van 31 lijders aan anaemia pernicioosa en bij vijf van zeven vrouwen met megaloblastaire zwangerschapsanaemie. Vitamine A-curves waren eveneens abnormaal in een aantal gevallen van perniciose anaemie.

Deze gegevens zijn in overeenstemming met de bevindingen van GROEN. Deze toonde door middel van duodenaalsondage een gestoorde resorptie van glucose aan bij onbehandelde lijders aan perniciose anaemie. Na behandeling verdween deze afwijking. Tot dezelfde conclusie leidden ook zijn waarnemingen over de resorptie van oraal toegediend lipiodol, waarvan de passage Röntgenologisch gevolgd werd.

We zijn van mening, dat gebrek aan foliumzuur of vitamine B12 een stoornis in de resorptie kan geven, omdat deze vitaminen essentieel zijn voor de integriteit van het darm-slijmvlies, waarvan de cellen zich in snel tempo delen.

Bij elk van de vier onderzochte gevallen van inheemse spruw, waarbij megaloblastaire veranderingen in het beenmerg - het gebruikelijke criterium voor tekort aan vitamine B12 of

foliumzuur - ontbraken, was de foliumzuurspiegel lager dan normaal.

Bij één geval van inheemse spruw werd obductie binnen drie uur na de dood verricht. Het microscopisch onderzoek van het maagdarmkanaal toonde sterke atrophie aan en gaf ook abnormale cellen met grote desintegrerende kernen te zien. Het beeld deed enigszins denken aan de laesies, die DUSTIN beschreef bij met aminopterine behandelde muizen.

Onzes inziens moet een gebrek aan vitamine B12 of foliumzuur bij inheemse spruw dan ook niet beschouwd worden als een zuiver incidenteel verschijnsel. Het mag niet op één lijn gesteld worden met bv. een tekort aan ijzer, dat een gevolg van de gestoorde resorptie is.

De behandeling kan mogelijk meer effectief gemaakt worden door:

- a. te bepalen, welke factor ontbreekt en door het toedienen van deze factor, hetzij vitamine B12, hetzij foliumzuur, in hoge dosering langs parenterale weg.
- b. door hiermede in een vroeg stadium te beginnen. Vaak wordt de diagnose echter pas laat gesteld, omdat diarrhoe meestal als een essentiële voorwaarde hiervoor wordt beschouwd. Diarrhoe ontbreekt echter niet zelden en bleek in één onzer gevallen een terminaal verschijnsel te zijn.

## Hoofdstuk VII

Weefselkweek-proeven met megaloblastair beenmerg werden verricht. De werkzaamheid van vitamine B12 en leverextracten werd bestudeerd. Vitamine B12 had geen effect, terwijl de beide leverpraeparaten actief bleken. Het eerste bevatte vitamine B12 in een gebonden vorm als proteïno-cobalamine, het tweede in een vrije vorm als cyano-cobalamine. Er werden geen duidelijke verschillen tussen deze beide praeparaten gevonden.

Deze gegevens pleiten tegen de opvatting van CALLENDER en LAJTHA, dat vitamine B12 gebonden moet zijn aan intrinsic factor (afkomstig van het maagslijmvlies of van andere origine), voordat het zijn werking kan uitoefenen op de beenmergcel.

Toch moet men rekening houden met de mogelijkheid, dat een accessoire factor in leverextract te vinden is.

Bij het overzien van dit terrein van onderzoek valt het op, dat belangrijke vragen nog op beantwoording wachten.

De haematopoïese kan gemakkelijk met behulp van biopsie bestudeerd worden. Ook kan het effect van de behandeling quantitatief uitgedrukt worden. Dit heeft er toe bijgedragen, dat aan de invloed van vitamine B12 en foliumzuur op de bloedvorming veel aandacht is besteed. Toch is het probleem van het bestaan van één (of meer) accessoire factor(en) voor de haematopoïese niet opgelost.

De relatie tussen vitamine B12 en foliumzuur is slechts gedeeltelijk opgehelderd. In dit verband zou het bijvoorbeeld van belang zijn de werkzaamheid van uracil bij de gecombineerde strengaandoening te bestuderen.

De werking van vitamine B12 en foliumzuur op andere organen, zoals de lever, de gonaden en de tractus intestinalis, is moeilijker te beoordelen, maar het is niet uitgesloten, dat deze voor de kliniek van belang is. Het glutenvrije dieet, dat zulke goede resultaten geeft bij coeliakie, dient verder beproefd te worden bij inheemse spruw.

De wijze, waarop de intrinsic factor van CASTLE zijn werking uitoefent, is nog onbekend.



## SUMMARY

### Introduction

After a short historical survey the subject of this thesis was stated. The practical importance of the introduction of the anti-anemic factors folic acid, citrovorum factor, vitamin B12, uracil, thymine and thymidine and the pathogenesis of different types of anemia will be discussed in the following chapters.

### Chapter 1

The results of treatment in the different types of megaloblastic anemia were reported. When the diagnosis of megaloblastic anemia was established, treatment was initiated with vitamin B12. If this proved to be ineffective, folic acid was used.

46 Cases of Addisonian pernicious anemia were seen. If one compares the results obtained by using vitamin B12 to those from liver extracts, vitamin B12 is found to be equally effective to high grade liver extracts. One advantage is the lessened incidence of allergic reactions. In the maintenance treatment vitamin B12 was effective. Clinically we did not find indications for the hypothesis, that accessory factors are essential.

The youngest patient was 14. She had symptoms suggestive of sprue, while her diet had been poor. The difficulties in differential diagnosis encountered in this case were discussed. The lack of intrinsic factor in her gastric juice and the absence of steatorrhea favored the diagnosis of juvenile pernicious anemia.

A man of 65 treated for 2 years with folic acid was admitted with glossitis, megaloblastic anemia and subacute combined degeneration of the cord. Vitamin B12 was effective in this patient, in which folic acid did not prevent a complete relapse.

6 Cases of megaloblastic anemia after partial gastrectomy and 1 after total gastrectomy were reported. An examination of the resected specimen in those cases in which it was available suggested, that the deficiency of intrinsic factor was due to the operation in 2 out of the 6 cases. In 2 patients an associated Addisonian pernicious anemia was considered to be the cause of the clinical picture, while in 2 cases the origin was uncertain.

Megaloblastic anemia due to vitamin B12 deficiency was produced in 2 patients on a low protein diet prescribed for

renal disorders. This observation as well as animal experiments by ABBOTT on the influence of vitamin B12 on nitrogen excretion indicate, that it is useful to give liverextract as a source of vitamin B12 to improve the general condition of a patient, if a protracted low protein diet is necessary.

Megaloblastic anemia in pregnant women may be a manifestation of Addisonian pernicious anemia or sprue. However, a third type of anemia, restricted in its incidence to the second part of pregnancy and the first months thereafter, was observed in 8 cases. In 3 of these patients vitamin B12 proved to be effective. Vitamin B12 had no effect whatsoever on the general condition and the blood picture in 2 cases. Hormone estimations in the urine were performed in some cases. Abnormal data were obtained in only 1 patient. These results do not support the hypothesis, that megaloblastic anemia of pregnancy is caused by an endocrinological disturbance. The possibility is indicated that the abnormal pattern of hormone excretion is due to the deficiency. The observation of severe testicular lesions in a 36 year old male with a folic acid deficiency also seems to confirm our impression, that folic acid and vitamin B12 have an effect on the internal genital organs.

In 2 cases of tropical sprue (Indische sprue) vitamin B12 proved to be effective.

The action of vitamin B12 in non-tropical sprue is variable. In 2 cases vitamin B12 produced a hematological remission, in one case vitamin B12 produced a reticulocyte response, but only after the administration of folic acid the megaloblasts disappeared from the bone marrow. Folic acid was active in 2 patients. The administration of vitamin B12 and folic acid is often less effective in non-tropical sprue than in the other conditions, in which these vitamins are indicated.

A case of megaloblastic anemia due to a gastro-colic fistula was reported. Vitamin B12 was effective.

It has been suggested by different authors, that the hemopoietic tissues may suffer from a deficiency because of inadequate storage of the hemopoietic principle in the liver. 3 Patients with megaloblastic anemia and associated liver damage were discussed. The diagnosis in these cases was Addisonian pernicious anemia, non-tropical sprue and nutritional megaloblastic anemia. An analysis of these cases did not suggest, that insufficient storage was the cause of the megaloblastic anemia. We feel that the association of liver damage and megaloblastic anemia is due to a (multiple) deficiency. Animal experiments were quoted indicating that the deficiency causing megaloblastic anemia even might be a predisposing factor for liver damage.

## Chapter 2

In this chapter studies on the vitamin B12 activity of serum for *Lactobacillus leichmannii* and the folic acid activity of blood for *Streptococcus fecalis* were reported. The values for vitamin B12 in normal people varied from 0.3 - 1.05 mγ/ml., average 0.47 mγ/ml. For folic acid values from 2.9 - 24.0 mγ/ml., average 6.9 mγ/ml. were found in normal controls.

In Addisonian pernicious anemia and other types of megaloblastic anemia reacting to vitamin B12 treatment (1 case of megaloblastic anemia of pregnancy and 1 case of megaloblastic anemia due to gastro-colic fistula and 1 case of nutritional megaloblastic anemia) the vitamin B12 content of the serum was low (see table 7, 8 and 9).

These data support the theory, that these types of megaloblastic anemia are caused by lack of vitamin B12.

In 1 case of sprue and 1 of megaloblastic anemia of pregnancy high levels were found (1.9 and 1.6 mγ/ml.).

The results obtained by folic acid assay are more difficult to evaluate. In patients refractory to vitamin B12 (1 case of megaloblastic anemia of pregnancy and 4 cases of sprue) the values for folic acid were low as might be expected from the effect of treatment with folic acid in cases of this type.

The results of folic acid assay in untreated pernicious anemia were variable. Low values were found in about half of the cases, while in the other half the values were within the normal range (see table 10 and 11).

## Chapter 3

In 7 cases of pernicious anemia in relapse the effect of an intramuscular injection of vitamin B12 on the folic acid activity of blood (before and after treatment with papaine) was studied. The immediate result was a decrease in the activity ("total" as well as "free") for *Streptococcus fecalis*. This occurred in some cases within 2 hours. In all the cases in which the study was continued for more than 48 hours, a subsequent rise was found. This observation is an argument against the possibility that in pernicious anemia a combined deficiency of folic acid and vitamin B12 exists. In a case of megaloblastic anemia in sprue low levels of vitamin B12 and folic acid were also found. After treatment with vitamin B12 a reticulocyte maximum occurred, but the bonemarrow remained megaloblastic. The folic acid activity of the serum also remained too low, therefore it was believed, that a combined deficiency existed in this patient.

In the discussion of these data it is suggested:

- a. that the administration of vitamin B12 in pernicious anemia in relapse increases the utilisation of folic

acid, because a process in the cell, for which both vitamin B12 and folic acid are necessary as coenzymes at different stages and which has been retarded by the lack of vitamin B12, is accelerated by the increased availability of vitamin B12 to the tissues. This hypothesis was originally proposed by WRIGHT et al. on the basis of their microbiological data. In agreement with this hypothesis is the decrease of the vitamin B12 level in a case of megaloblastic anemia of pregnancy after treatment with folic acid (from 1.6 to 0.66  $\mu\text{g}/\text{ml.}$ ) and the high level of vitamin B12 found in a case of sprue with folic acid deficiency (1.9  $\mu\text{g}/\text{ml.}$ ).

- b. vitamin B12 has a direct or indirect influence on the storage of factors of the folic acid group in the liver. After the administration of vitamin B12 more folic acid or citrovorum factor (both of these substances are active in the *Streptococcus fecalis* assay) is released from the liver. This may explain the low values found in untreated pernicious anemia and the subsequent rise some days after treatment with vitamin B12 had been instituted.

#### Chapter 4

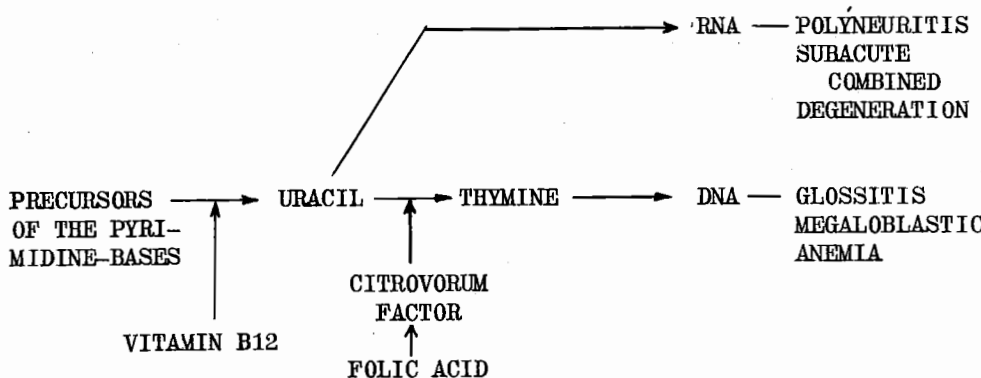
Microbiological as well as clinical data on the activity of constituents of nucleic acids suggest, that vitamin B12 and folic acid exert at least part of their influence on megaloblastic anemias by their role in the synthesis of nucleic acids.

The desoxyribosenucleic acids (DNA) are an essential constituent of the chromosomes. The synthesis of DNA is required for mitosis, when the number of chromosomes is doubled. A disturbance of DNA synthesis due to a lack of vitamin B12 or folic acid becomes manifest therefore in the tissues with the greatest number of mitoses such as the hemopoietic system and the gastro-intestinal tract and causes megaloblastic anemia and glossitis.

Experimental data were quoted indicating that folic acid influences only the DNA synthesis, while vitamin B12 is necessary for the production of RNA as well as DNA. Large amounts of RNA are found in the nerve cell and are essential for the protein synthesis required for maintaining the integrity of the axon. In cases of a vitamin B12 deficiency neurological lesions will appear first in those parts of the nervous system, where the RNA protein synthesis mechanism is most active. These parts are the nerve cells with the longest axons. In the first stage of nervous system involvement one finds polyneuritis, in a second stage the longest axons in the central nervous system, the pyramidal tracts and the posterior funiculi, are attacked.

Because folic acid has no direct influence on RNA metabolism, lack of folic acid causes no neurological disorders.

In this chapter the theories of VILTER et al. and JUKES et al. were compared. A modification of the theory of JUKES was proposed.



This may explain the hemopoietic action of folic acid as well as its deleterious effect on the nervous system in patients with a vitamin B12 deficiency. By giving extra folic acid a larger portion of the total amount of pyrimidine bases will be methylated, giving rise to thymine. By the formation of thymine the DNA synthesis can be maintained at an adequate level, therefore the anemia will improve. The insufficient supply of uracil will be decreased even more and the RNA synthesis will suffer accordingly, giving rise to a more rapid development of nervous system lesions.

In megaloblastic anemia due to lack of folic acid vitamin B12 is ineffective, because the production of DNA is not increased, even if more uracil would be synthesised. In agreement with this theory was the observation of VILTER et al., who saw no effect of uracil in a case of megaloblastic anemia of pregnancy, while thymine had hemopoietic activity in the same patient. Uracil is active in pernicious anemia.

## Chapter 5

Erythroblastic anemia associated with atrophy of the spleen was observed in 5 patients. In 4 cases signs suggestive of non-tropical sprue were found. Because of chronic glomerulonephritis the 5th patient had been treated with a low protein diet. In one of these patients, in whom the action of folic acid on the periferal bloodpicture was studied, the effect was striking: the orthochromatic normoblasts disappeared and the HOWELL-JOLLY-bodies showed fragmentation. This was supposed to be due to an effect of folic acid on the spleen. The theory was proposed, that atrophy of the spleen may be caused by a disturbance of cellular regeneration due to a chronic folic acid deficiency.

## Chapter 6

The significance of folic acid and vitamin B12 in the treatment of sprue was subjected to an analysis. According to some authorities (FRAZER, DAVIDSON) the action of these vitamins in non-tropical sprue is restricted to the hemopoietic system, while the absorption is not influenced. ELDERS and CASTLE suggested, that sprue is due to a deficiency. DARBY demonstrated an influence of folic acid on vitamin A tolerance-curves and glucosetolerance-curves. The latter believed that sprue was due to a lack of folic acid.

Data have been collected which have a bearing on this subject.

In patients with a deficiency of folic acid or vitamin B12 a defect of absorption was demonstrated. The fat content of the stools was determined in these patients. The values obtained were higher than normal in about 20 of 31 cases of pernicious anemia and in 5 out of 7 cases of megaloblastic anemia of pregnancy.

Vitamin A tolerance-curves were abnormal in a number of cases of pernicious anemia.

These data confirm GROEN's results. He demonstrated a diminished absorption of glucose in pernicious anemia in relapse by the use of duodenal intubation. Glucose absorption became normal after treatment. He also observed an impairment of absorption by following orally administered lipiodol in its passage along the intestinal tract.

We believe, that a deficiency either of folic acid or of vitamin B12 may give rise to a disturbance of absorption, because these vitamins are necessary for the rapidly dividing cells of the mucous membrane in the intestinal tract.

In 4 out of 4 cases of non-tropical sprue in relapse without megaloblastic anemia - which is the usual criterium for a deficiency of folic acid or vitamin B12 - the level of folic acid in the blood was lower than normal.

In a case of non-tropical sprue the intestinal tract, removed at autopsy within 3 hours after death, showed marked atrophy and abnormal cells with large disintegrating nuclei. The microscopical picture showed some features reminiscent of the lesions observed by DUSTIN in mice treated with aminopterin.

It is our opinion therefore that one should not consider the deficiency of vitamin B12 or folic acid in sprue as a purely accidental result of the disturbance of absorption such as a lack of iron.

The results of treatment perhaps might be improved:

- a. by determining the nature of the deficiency and treating it accordingly either with vitamin B12 or folic acid in high dosage parenterally.
- b. by initiating therapy in an early stage. This is difficult, because the diagnosis is often made only in a

late stage of the disease. Too much stress has been placed on diarrhea as an essential symptom for the diagnosis. Quite often diarrhea is absent at first and it may be a terminal phenomenon, as occurred in one of our cases.

## Chapter 7

Tissue culture experiments of megaloblastic bonemarrow were reported. The activity of vitamin B12 was compared to that of liver extracts. Vitamin B12 was inactive, but the liverpreparations were effective. One liver preparation contained vitamin B12 in a bound form as a proteino-cobalamine, in the other vitamin B12 was free as cyano-cobalamine. No significant difference between these preparations was observed.

These data do not support CALLENDER and LAJTHA's hypothesis, that vitamin B12 must be bound to intrinsic factor (either of gastric or extragastric origin), before it can act on the bone marrow cell.

Still these data suggest the possibility of the existence of an accessory factor in liver extract.

In reviewing this field of study it must be admitted; that important problems remain to be solved. Because hemopoiesis can easily be studied by biopsy and because therapeutic responses can be evaluated quantitatively, the effect of vitamin B12 and folic acid on the hemopoietic system has been extensively studied. The question of accessory factors, however, is not definitely settled.

The interrelationship of vitamin B12 and folic acid is only partially clarified. It would be interesting to study the effect of uracil on subacute combined degeneration of the cord.

The influence of vitamin B12 and folic acid on other tissues such as the liver, the gonads and the intestinal tract is more difficult to asses, but may be of clinical importance.

The treatment with a gluten-free diet, which gives excellent results in celiac disease, was also effective in sprue in 3 adults and should be given further trial.

The mechanism of action of CASTLE's intrinsic factor is still unknown.

TABEL 1  
Perifeerose anemie  
Behandeling met Vitamine B<sub>12</sub> intra-oculair

Naam	Lft.	Gesl.	Tong	Zenuw- stelsel	Bloedwaarden voor de behandeling					Reti- cylen max. in %	Dag- ret- cylen top	Therapie	Na 7 dagen		Na 14 dagen		Voortgezette behandeling met	Duur	Laatste controle			Laatste controle neurologische status	Duur klachten	Complicaties
					Hb.	Ery.	Diam.	Leuc.	Thromboc.				Hb.	Ery.	Hb.	Ery.			Hb.	Ery.	Diam.			
S.d.V.-d.L.	46	♀	lichte atrofie	g.b.	9,9	2,1	7,8	5000	200.000	0,1	2,3	80 γ vitamine B <sub>12</sub> i.m.	10	2,5	-	-	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. p. week	10 mnd.	12,0	1,2	7,2	-	4 weken	Kreeg een tijdlang ijzer, omdat zij een hypochrome anemie had.
J.R.	70	♂	glossitis	g.b.	6,4	1,3	9	7100	-	1,6	23,0	80 γ vitamine B <sub>12</sub> i.m.	8,0	1,7	7,8	2,1	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. p. week	6 mnd.	15,8	1,4	-	-	6 weken	Werd behandeld met leverextract. In 1922 voor het eerst glossitis. In 1926 milt-ectirpatie.
G.W.	60	♂	glossitis	hyp- aesthesie	11,2	2,4	8,4	6500	-	1,2	4,0	80 γ vitamine B <sub>12</sub> i.m.	11,1	2,15	13,3	3,5	-	-	-	-	-	-	1 jaar	Elachten, die deden denken aan angina pectoris.
J.V.	58	♂	g.b.	g.b.	8,8	2,4	7,8	3300	165.000	0,2	12,1	80 γ vitamine B <sub>12</sub> i.m.	-	-	12	1,2	-	-	-	-	-	-	-	20 jaar geleden was de diagnose gesteld. Was voor de opname behandeld met leverextract.
J.N.	59	♂	glossitis	g.b.	8,4	1,6	8,2	3800	210.000	0,9	10,0	80 γ vitamine B <sub>12</sub> i.m.	8,6	2,0	-	-	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. per 2 weken	5 mnd.	14	4,75	7,3	-	1½ jaar	-
M.H.-N.	38	♀	g.b.	g.b.	6,7	1,3	8,2	5400	165.000	1,0	23,2	80 γ vitamine B <sub>12</sub> i.m.	7,1	-	9,4	3,1	-	-	-	-	-	-	8 mnd.	-
E.M.	81	♂	g.b.	g.b.	11,4	2,25	8	5500	-	0,5	3,8	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de, 3de en 6de dag	12	2,7	12,2	2,9	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. per 2 weken	6 mnd.	14,6	1,7	7,2	-	3 mnd.	Diabetes mellitus.
A.T.	63	♂	iets glad	gecomb. streng- aandoe- ning	11,5	2,6	8,7	1500	82.500	0,7	7,3	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de, 3de en 7de dag	12	2,9	13,4	3,7	2 x 15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m.	7 mnd.	14	5,3	-	Na 4 mnd. sterke subjectieve, redelijke objectieve verbetering	± 1 jaar	-
A.H.	56	♂	centrum vat glad	gecomb. streng- aandoe- ning	6,4	1,8	8,3	4100	147.500	0,3	21,6	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	7	2,1	9,5	2,6	-	-	-	-	-	-	7 jaar	Ongeregelde behandeling.
J.T.	48	♂	glossitis	polyneur- itis	7,7	1,7	8,1	4300	-	-	-	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. 3x p. week (poliklinisch)	-	-	-	-	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. 3 x per 14 dagen	4 mnd.	15,2	5,1	-	Duidelijk verbeterd	4 mnd.	3 jaar tevoren behandeld, laatste 2 jaar niets gehad.
J.v.D.	69	♂	g.b.	g.b.	8,0	1,6	7,8	4600	117.500	0,2	16,8	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de, 3de, 5de 7de, 9de, 11de en 13de dag	8,5	2,5	9,6	2,8	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. per week	16 mnd.	12,8	4,3	-	-	-	Werd reeds 14 jaar behandeld. De laatste tijd 1 x per week leverextract.
M.P.	69	♂	g.b.	lichte poly- neuritis	5,8	1,1	8	2000	-	0	22,4	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	7,3	-	8,8	2,45	2 ml. leverextract per 14 dagen	20 mnd.	12,4	4,5	-	g.b.	± 2 mnd.	M. Bechterew, bronchiectasieën.
A.v.d.W.-M.	39	♀	lichte atrofie	polyneu- ritis, lichte strengaandoening	5,1	1,35	8,2	2900	95.000	0,0	18,6	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	5,8	1,5	7,7	2,6	2 ml. leverextract per 14 dagen	14 mnd.	12,3	4,0	-	-	± 3 mnd.	-
E.R.-O.	33	♀	tong g.b., perleke	-	5,3	1,4	8,5	2900	-	0,8	18,2	10 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	6,7	2,0	7,7	2,5	2 ml. leverextract per week	42 mnd.	11,3	4,3	7,2	-	-	Bij de laatste controle herstellende van een ijzer-deficiënte anemie.
J.S.	89	♂	glossitis	-	6,9	1,8	8,2	3200	-	0,5	6,6	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	-	2,2	9	2,7	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. per 3 weken	8 mnd.	14,2	4,8	-	-	-	-
T.S.	60	♂	lichte glossitis	lichte poly- neuritis	5,6	1,7	8,3	5900	-	1,5	31,8	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	7,3	2,2	10,4	3,2	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. per week	12 mnd.	15,2	4,4	-	-	10 jaar	Ongeregelmig behandeld. Leverfunctie-stoornissen. Leverbiopsie: steatosis.
A.P.-E.	77	♀	glossitis	matige gecomb. streng- aandoening	4,2	1,2	-	5900	140.000	3,5	17,5	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	6,0	1,8	6,6	2,7	8 mnd. 15 γ vit. B <sub>12</sub> per week. 4 mnd. 15 γ vit. B <sub>12</sub> per 2 weken.	12 mnd.	14	5,8	-	Sterke objectieve en subjec- tieve verbetering	2 jaar	-
H.B.-O.	36	♀	glossitis	poly- neuritis	5,6 7,8	1,5 2,6	8,2	4000	112.500	2,2 1,6	- 8,1	700 ml. bloed, daarna 15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	9,8	3,2	11,2	3,4	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. per week	13 mnd.	12,6	4,0	7,4	Duidelijke subjectieve en objectieve verbetering	2 jaar	Symptomatische psychose. Depressief beeld. Verbeterde na electro-shock.
A.P.-R.	50	♀	lichte atrofie	g.b.	7,5	1,7	8,2	2900	127.500	0,6	3,1	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	8,5	2,5	8,8	2,5	2 ml. leverextract per 2 weken	30 mnd.	13,3	4,3	7,4	-	2½ jaar	-
J.S.	71	♂	iets glad	opgeheven vibratie- zin	8	1,5	8,1	4300	197.500	1,0	17,8	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	10,6	2,3	10,6	2,5	2 ml leverextract 1 x per week	9 mnd.	14	4,8	7,2	-	2 jaar	-
H.B.	62	♂	iets glad	poly- neuritis	12,8	2,75	8,3	7000	260.000	0,4	-	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	-	-	13,2	3,3	2 ml. leverextract 1 x per week	9 mnd.	4,5	4,9	7,3	-	2 jaar	-
H.T.-A.	87	♀	glad	g.b.	4,2 8,0	1,5 1,8	-	3300	212.500	1,4	4,4	2000 ml. bloed, daarna 30 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	8,6	2,0	8	2,2	-	-	-	-	-	-	½ jaar	Hardnekkige urineweg-infectie. Aanvankelijke diagnose: maagcarcinoom. Spontaan enige keren verbeterd.
J.S.-L.	29	♀	glossitis	g.b.	6,6	1,4	-	8600	-	3	18,0	15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	-	2,0	-	2,55	-	-	-	-	-	-	-	-
A.O.	14	♀	glossitis	g.b.	4,8 6,0	1,2 1,5	8,3	6300	127.500	0,5	8,2	400 ml. bloed, daarna 15 γ vit. B <sub>12</sub> i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	6,6	1,7	7,8	2,4	15 γ vit. B <sub>12</sub> 2 x per week	6 weken	12,8	3,8	7,4	-	-	-



TABEL 2

Naam	Lft.	Gesl.	Tong	Zenuw- stelsel	Bloedwaarden voor de behandeling					Reticu- locyten max. in %	Dag reticu- locyten top	Therapie	Na 7 dagen		Na 14 dagen		Voortgezette behandeling met:	Duur	Laatste contrôle			Laatste contrôle neurolog. status	Duur klach- ten	Complicaties	
					Hb.	Ery.	Diam.	Leucoc.	Thromboc.				Ret. in %	Hb.	Ery.	Hb.			Ery.	Hb.	Ery.				Diam.
J.K.W.-H.	49	♀	atrofie aan de rand	g.b.	5,1	1,5	8	3000	132.000	2,5	14,8	6	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	7	2,4	8,3	2,7	15γ vit. B12 i.m. per 14 dagen	4 mnd.	12	4,8	7,6	-	1 jaar	menopauze-klachten
R.b.	52	♂	atrofie	g.b.	8	1,7	8,6	4300	92.500	1,5	11,2	6	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	8,5	2,3	-	-	15γ vit. B12 i.m. per 14 dagen	7 mnd.	16,4	5,2	7,2	-	2 mnd.	struma colloides
H.K.	70	♂	g.b.	gecomb. streng- aandoe- ning	5,6 7,2	1,5 1,95	8,2	3100	-	0,1	8,0	4	800 ml. bloed, daarna 2 ml. leverextract om de andere dag	8	2,4	8,6	2,8	-	-	-	-	-	4 tot 5 mnd.		
W.S.	62	♂	glossitis	lichte streng- aandoe- ning	2,6 4	0,74	-	11.000	-	5,0	22,0	6	2 x 800 ml. bloed, daarna 4 ml. leverextract om de andere dag	8	1,2	9,9	-	-	-	-	-	-	-	doofstom	
J.de G.	71	♂	lichte glossitis	g.b.	6,6	1,3	8,2	4800	-	0,6	18,7	8	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	7,4	1,6	8,6	2,1	1 x per week 2 ml. leverextract i.m.	6 mnd.	15,8	4,2	-	-	1 jaar	
L.T.	61	♂	lichte atrofie	g.b.	6,4	1,5	-	5900	-	1,2	12,0	5	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	9,8	-	10,2	3,5	2 x per week 2 ml. leverextract i.m.	3 mnd.	13,0	3,95		-	6 mnd.	
J.B.	50	♂	g.b.	g.b.	6,1	1,3	8,2	3900	142.500	1,0	26,4	6	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	6,6	1,63	9,4	2,9	1 x per week 2 ml. leverextract i.m.	6 weken	12,8	4,1	7,4	-	3 mnd.	
G.L.-v.d.W.	40	♀	g.b.	g.b.	5,3	1,1	8,2	3000	65.000	2,5	32,0	8	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	6,4	1,8	8,0	1,8	1 dd. 2 ml. leverextract	6 weken	12,5	3,1	-	-	4 weken	
J.Z.-H.	56	♀	atrofie	gecomb. streng- aandoe- ning	6,7	1,1	8,6	2500	202.500	0,7	6,6	9	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	8,5	-	9,3	2,1	1 dd. 2 ml. leverextract	2 mnd.	14,1	4,0		veel verbeterd	3-4 mnd.	
A.de R.	46	♂	atrofie	g.b.	6,3	1,5	8,0	2000	105.000	1,8	9,8	8	2 ml. leverextract i.m. op de 1ste, 2de en 3de dag	-	2,3	10,7	4,2	-	-	-	-	-	-		

TABEL 3

Pernicieuse anaemie.  
Behandeling per os.

Naam	Lft.	Gesl.	Tong	Zenuw- stel- sel	Bloedwaarden voor de behandeling					Reti- culo- cyten max. in %	Dag reticulo- cyten top	Therapie	Na 7 dagen		Na 14 dagen		Voortgezette behandeling met:	Duur	Laatste controle			Laatste controle neurologische status	Duur klach- ten	Complicaties:	
					Hb.	Ery.	Diam.	Leuc.	Thromboc.				Ret. in %	Hb.	Ery.	Hb.			Ery.	Hb.	Ery.				Diam.
P.V.	54	♂	glossitis	g.b.	9,1 10,2	2,4 2,8		4200	162.500	0,5	4,2 geen crisis	9	20γ vit. B12 + 500γ foliumzuur per os op de 1ste, 2de en 3de dag, daarna 15γ vit. B12 i.m. op 3 opeenvolgende dagen	-	2,7 3,3	-	-	1 x per 3 weken 15γ vit. B12 i.m.	27 mnd.	-	-	-	-	-	-
G.S.	56	♂	g.b.	g.b.	7 7	1,6 2,1	8,3	3200	120.000	0,6	2,5	6	20γ vit. B12 + 500γ foliumzuur per os op de 1ste, 2de en 3de dag, 14 dagen later: 15γ vit. B12 i.m. op 3 opééenvolgende dagen.	8,8	1,2 2,6	9,6	-	1 x per week leverextract injectie	13 mnd.	15	4,9	-	-	4 weken	-
J.d.B.	53	♂	g.b.	g.b.	5,1 4,8	1,2 1,2	8,3	5000	62.500	0,6	2,5 16,2	6 9	20γ vit. B12 + 500γ foliumzuur per os op de 1ste, 2de en 3de dag, 15γ vit. B12 i.m. op de 8ste, 9de en 10de dag.	-	-	-	-	1 x per 3 weken 15γ vit. B12 i.m.	22 mnd.	15,4	4,9	-	-	-	-
J.W.	62	♂	lichte glossitis	g.b.	11,2	2,1	8,3	4700	172.500	1,7	7,4	8	1 x 50 mg. foliumzuur per os	12,0	2,7	op de 12e dag leverextract		-	-	-	-	-	-	-	-
P.K.	55	♂	lichte glossitis	g.b.	10,1 10,1	2,25 2,25	8,4	3100	168.000	2,4 3,0	3,0 7,4		2 dd. 5γ vit. B12 per os gedurende 1 week; daarna 2 dd. 5γ vit. B12 + intrinsicfactor praeparaat per os	10,1 11,4	2,25 2,7	12	3,5	vit. B12 15γ i.m. 1 x per 2 weken	17 mnd.	15,9	4,2	7,2	-	-	asthma bronchiale
B.S.	68	♂	g.b.	g.b.	6,9	1,6	8,2	5600	100.000	1,3	15,8	7	10γ vit. B12 geapliceerd tegen het wangslijmvlies, gedurende 11 dagen, daarna 15γ vit. B12 i.m. op 3 opeenvolgende dagen.	7,2	1,8	9,6	2,3	vit. B12 15γ i.m. 1 x per 10 dagen	18 mnd.	7,4	3,4	-	-	1 jaar	groot maagcarcinoom
C.L.	50	♂	lichte atrofie	g.b.	4,5	1,3	8,3	4400	110.000	2,1	10,6	8	20γ vit. B12 + pyloruspoeder per dag per os	6,0	1,8	9,3	2,8	4 mnd. 8γ vit. B12, later 4γ vit. B12 + pyloruspoeder per dag	6 mnd.	14,2	4,6	-	-	6 weken	-
G.Z.-B.	48	♀	lichte atrofie	g.b.	6,1	1,2	8,0	3700	72.500	0,9	11,6	9	1 week 10γ vit. B12 per os, daarna 1 week 10γ vit. B12 tegen het wangslijmvlies geapliceerd	7,3	1,5	8,3	2,3	-	-	-	-	-	-	9 mnd.	-
K.d.J.	68	♂	lichte klachten obj.: g.b.	ataxie	6,1	1,35	-	4200	124.000	0,4	14,0	7	1 week 10γ vit. B12 per os, daarna 1 week 10γ vit. B12 tegen het wangslijmvlies geapliceerd	6,4	1,8	8,8	2,1	1 x per week leverextract injectie	6 mnd.	12,3	5,3	-	-	-	-
H.H.S.	67	♂	g.b.	g.b.	8,0	1,9	8,2	5100	155.500	0,6	8,5	8	10γ vit. B12 + pyloruspoeder per os	8,6	2,3	10,4	2,8	7 weken: 10γ vit. B12 + pyloruspoeder 3 mnd. : 8γ vit. B12 + pyloruspoeder 7 mnd. : 4γ vit. B12 + pyloruspoeder	1 jaar	6	2,0	-	-	5 weken	recidief ondanks behandeling met 4γ vit. B12 + pyloruspoeder
B.H.	76	♂	atrofie	g.b.	8,0	1,7	8,5	2500	115.000	0,7	7,0	5	25 mg. foliumzuur per dag per os	8,5	2,2	8,8	2,4	15γ vit. B12 per week	-	-	-	-	-	2 jaar	-